



**Inês da Silva Borges**

Licenciada em Conservação e Restauro

**Principais adesivos utilizados em conservação e restauro de papel:  
estabilidade química e biorecetividade a fungos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Conservação e Restauro

Orientador: Doutora Sílvia Oliveira Sequeira, FCT-UNL

Co-orientadores: Professora Doutora Maria Filomena de Macedo Dinis, FCT-UNL  
Doutora Maria Helena Casimiro, C<sup>2</sup>TN/IST

Monte de Caparica  
**Setembro, 2017**



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA



**Inês da Silva Borges**

Licenciada em Conservação e Restauro

**Principais adesivos utilizados em conservação e restauro de papel:  
estabilidade química e biorecetividade a fungos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Conservação e Restauro

Orientador: Doutora Sílvia Oliveira Sequeira, FCT-UNL

Co-orientadores: Professora Doutora Maria Filomena de Macedo Dinis, FCT-UNL  
Doutora Maria Helena Casimiro, C<sup>2</sup>TN/IST

Monte de Caparica  
**Setembro, 2017**



**[Principais adesivos utilizados em conservação e restauro de papel: estabilidade química e biorecetividade a fungos]**

Copyright © 2017 Inês da Silva Borges

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



*I have not failed, I've just found 10 000 ways that won't work*  
Thomas A. Edison





## **Agradecimentos**

Esta tese foi realizada no Departamento de Conservação e Restauro, FCT, Universidade Nova de Lisboa (DCR, FCT-UNL) e na Unidade de Investigação VICARTE (UNL)

Gostaria de começar por agradecer à minha Orientadora, Doutora Sílvia Sequeira (FCT-UNL), por todo o apoio e paciência prestado durante estes meses. Agradeço às minhas co-orientadoras, professora Doutora Filomena Macedo (FCT-UNL) e Doutora Helena Casimiro (C2TN/IST) por ouvirem e responderem às minhas dúvidas.

Agradeço a todas as pessoas que se disponibilizaram para a realização das análises e respetivas discussões: Doutora Marta Corvo (CENIMAT, FCT-UNL) pela reologia; Doutor Miguel Silva (DCR, FCT-UNL) e Doutora Joana Lia Ferreira (DCR, FCT-UNL) pelas análises de FTIR-ATR; Doutora Ana Machado (LJF) pelo apoio com a câmara de envelhecimento artificial; Professor José Paulo Sampaio (DCV, FCT-UNL) pela autoclave; Professora Ana Ramos (FCT-UNL) pelo viscosímetro capilar e discussão. Agradeço ao Sr. Luís pela sua disponibilidade e valiosa ajuda. A todos os que contribuíram para a criação deste trabalho.

Aos meus colegas Artur, Ângela, Mafalda e Vera. Às “Meninhas” e companheiras de laboratório Daniela, Joana e Soraia. À Rita e à Sara um agradecimento muito especial. Foi um prazer fazer esta viagem convosco.

Aos meus amigos André, Diogo e Cláudia, à minha prima Fatinha, à Banda do Ateneu Artístico Vilafranquense, restante família e a outros tantos, por me distraírem com o mundo lá fora.

E por último e não menos importante, aos meus pais e irmão, sempre ao meu lado.



## Resumo

Este trabalho teve como objetivo contribuir para uma escolha mais informada do tipo de adesivo a usar numa intervenção de conservação e restauro em papel. Para tal, foi analisada a estabilidade química dos principais adesivos atualmente em uso, bem como a sua biorecetividade a fungos (capacidade de um material ser colonizado por fungos), um tema ainda pouco explorado, apesar da sua grande relevância para a preservação dos objetos. Através da realização de uma mini-revisão da literatura relativa a adesivos utilizados em intervenções em papel, foram selecionados cinco para este estudo: Amido, *Archibond*<sup>®</sup> sem suporte, Carboximetilcelulose, Hidroxipropilcelulose e Metilcelulose.

As propriedades químicas dos adesivos foram analisadas, antes e após envelhecimento artificial, utilizando as seguintes técnicas: FTIR-ATR, viscosimetria, medição do grau de polimerização, higroscopicidade, colorimetria, pH e termogravimetria (TGA).

A biorecetividade primária e secundária dos adesivos foi testada sobre dois suportes diferentes (papel e vidro), com três espécies de fungos filamentosos, em separado: *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* e *Penicillium pinophilum*. A avaliação da biorecetividade dos adesivos foi determinada durante 56 dias, através da área de colonização dos adesivos, recorrendo a análise de imagem digital.

Conclui-se que dos cinco adesivos, a pasta de Amido foi o adesivo mais biorecetivo, embora seja o mais estável ao envelhecimento artificial, no que diz respeito a alteração de cor, grau de polimerização e pH.

A Carboximetilcelulose e o *Archibond*<sup>®</sup>, embora muito pouco biorecetivos aos fungos testados, apresentam deterioração química e estética com o envelhecimento.

A Metilcelulose e a Hidroxipropilcelulose são os adesivos que apresentam uma melhor relação entre estabilidade química ao envelhecimento artificial e menor biorecetividade a fungos.

**Palavras-chave:** Papel, Adesivos, Conservação, Biodeterioração, Amido, *Archibond*<sup>®</sup>, Carboximetilcelulose, Hidroxipropilcelulose, Metilcelulose



## Abstract

This work aimed to contribute to a more informed choice of the adhesive type to be used in conservation and restoration of paper. For this purpose, the chemical stability of the main adhesives currently in use, as well as its fungus bioreceptivity (the ability of a material to be colonized by fungi) was analyzed. This subject has been little explored, despite its great relevance to the preservation of objects. Through a mini-review of the literature on adhesives used in paper interventions, five were selected for this study: Starch, *Unsupported Archibond*<sup>®</sup>, Carboxymethyl cellulose, Hydroxypropyl cellulose and Methyl cellulose.

The chemical characteristics of the adhesives, before and after artificial aging, were analyzed by: ATR-FTIR, viscometry, measurement of degree of polymerization, hygroscopicity, colorimetry, pH and thermogravimetric analysis (TGA).

The primary and secondary bioreceptivity of the adhesives was tested on two distinct supports (paper and glass) and inoculated with three fungal species separately: *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* and *Penicillium pinophilum*. For 56 days the fungi colonization area on the adhesives was measured through digital photo analysis.

It was concluded that of the five adhesives, the starch paste was the most bioreceptive adhesive, although it was the most stable to artificial aging, with respect to color change, degree of polymerization and pH.

Carboxymethyl cellulose and *Archibond*<sup>®</sup>, although very little bioreceptive to the fungi tested, showed chemical and esthetic deterioration with aging.

Methyl cellulose and Hydroxypropyl cellulose are the adhesives which have a better relationship between chemical stability to artificial aging and lower fungal bioreceptivity.

**Keywords:** Paper, adhesive, Conservation, Bioreceptivity, Starch, *Unsupported Archibond*<sup>®</sup>, Carboxymethyl cellulose, Hydroxypropyl cellulose, Methyl cellulose





## Índice de conteúdos

Agradecimentos .....	ix
Resumo .....	xi
Abstract .....	xiii
Índice de conteúdos .....	xvi
Índice de Figuras .....	xix
Índice de Tabelas .....	xxi
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos .....	xxiii
1. Introdução .....	1
2. Materiais e Métodos .....	4
2.1. Mini-revisão da literatura: adesivos mais utilizados atualmente em conservação e restauro de papel .....	4
2.2. Seleção dos adesivos .....	4
2.3. Seleção do substrato .....	5
2.4. Seleção de espécies fúngicas .....	5
2.5. Caracterização química dos adesivos selecionados .....	6
2.5.1. <i>Análises Térmicas (TGA e DSC)</i> .....	7
2.5.2. <i>Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)</i> .....	7
2.5.3. <i>Viscosidade</i> .....	7
2.5.4. <i>Higroscopia</i> .....	8
2.5.5. <i>Determinação de pH</i> .....	8
2.5.6. <i>Colorimetria</i> .....	8
2.6. Avaliação do crescimento fúngico sobre os adesivos (biorecetividade) .....	9
<i>Preparação das amostras para inoculação</i> .....	10
<i>Preparação do inóculo</i> .....	10
<i>Incubação das amostras</i> .....	10
<i>Medição da área de colonização</i> .....	11
3. Resultados e Discussão .....	12
3.1. Caracterização química dos adesivos .....	12
3.1.1. <i>Análise Térmica (TGA)</i> .....	12
3.1.2. <i>Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)</i> .....	12
3.1.3. <i>Viscosidade</i> .....	17
3.1.4. <i>Higroscopia</i> .....	19
3.1.5. <i>Determinação de pH</i> .....	20
3.1.6. <i>Colorimetria</i> .....	21
3.2. Avaliação do crescimento fúngico sobre adesivos .....	23
3.3. Comparação de todos os resultados obtidos .....	26
4. Conclusões .....	26
5. Bibliografia .....	28
Anexo A – Adesivos usados em CR .....	I
Anexo B – Preparação e aplicação dos adesivos .....	V
Anexo C – Viscosimetria Capilar .....	VIII
Anexo D – Espectroscopia por NanoDrop e determinação da biomassa .....	XII
Anexo E – Condições de HR e T dentro da caixa de incubação .....	XV
Anexo F - Observação macroscópica dos adesivos em filme .....	XVI
Anexo G – Análise de calorimetria diferencial de varrimento (DSC) .....	XVII
Anexo H – Higroscopia .....	XVIII
Anexo I – Medições de pH .....	XIX
Anexo J – Colorimetria .....	XIX
Anexo K – Área colonizada por fungos em % .....	XX







## Índice de Figuras

Figura 1 - Colônias de <i>A. niger</i> em PDA (meio de Potato Dextrose Agar), 7 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. <i>A. niger</i> c) conidióforo e d) conídios/esporos (escala a 100 e 50 µm respectivamente) .....	5
Figura 2 - Colônias de <i>A. pullulans</i> em MEA (meio de Malt Extract Agar), 21 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. <i>A. pullulans</i> c) hifas e d) conídios (escala = 50 µm) .....	6
Figura 3 - Colônias de <i>P. pinophilum</i> em MEA, 21 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. <i>P. pinophilum</i> c) conidióforo, fiálide e conídios d) conídios (escala = 20 µm).....	6
Figura 4 - Desenho experimental com o número de amostras em papel e vidro inoculadas com as três espécies fúngicas. ....	10
Figura 5 - Termogramas dos adesivos em filme por TGA .....	12
Figura 6 - Espectros de FTIR normalizado do adesivo Amido em filme Não Envelhecido e Envelhecido. Do lado direito encontra-se a estrutura química de $\alpha$ -D-glucose (cadeia linear) .....	13
Figura 7 - Poli (metacrilato de etilo/acrilato de metilo) (P(EMA/MA)) .....	13
Figura 8 - Espectros de $\mu$ -FTIR normalizados do adesivo Archibond® sem suporte em filme Não Envelhecido, Envelhecido zona incolor, Envelhecido zona amarela 1 e Envelhecido zona amarela 2. .... <b>Erro! Marcador não definido.</b>	
Figura 10 - Estrutura idealizada da .....	14
Figura 9 - Espectros de FTIR normalizado do adesivo Carboximetilcelulose (CMC) em filme Não Envelhecido, Envelhecido (zona incolor) e Envelhecido (zona amarela) .....	15
Figura 11 – Espectros de FTIR normalizado do adesivo Hidroxipropilcelulose (HPC) em filme Não Envelhecido e Envelhecido.....	15
Figura 12 - Estrutura idealizada da .....	16
Figura 13 - Espectro de absorção FTIR normalizado do adesivo Metilcelulose (MC) em filme Não Envelhecido e Envelhecido.....	16
Figura 14 - Estrutura idealizada da Metilcelulose (MC) .....	16
Figura 15 – Espectros obtidos por reologia dos adesivos a 4% m/v 25°C .....	17
Figura 16 – Viscosidade aparente dos adesivos a uma velocidade de cisalhamento de 26,66 1/s .....	17
Figura 17 – Água absorvida em % por adesivos Não Envelhecidos e Envelhecidos. ....	19
Figura 18 – pH de adesivos aplicados sobre papel (papel sem adesivo é considerado controlo). Adesivos Não Envelhecidos estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) das amostras de controlo Não Envelhecidas estão marcadas com “a”. Adesivos Envelhecidos estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) das amostras de controlo Envelhecidas estão marcadas com “*”. ....	20

## Anexos

Figura B.1 – Aplicação de CMC sobre vidro.....	VI
Figura D.1 – Amostras usadas na extração de ADN a) colónia de <i>A.niger</i> b) Amido inoculado com $1 \times 10^6$ esporos/ml c) Amido inoculado com $1 \times 10^4$ esporos/ml d) Tylose inoculada com $1 \times 10^6$ esporos/ml e d) Tylose inoculada com $1 \times 10^4$ esporos/ml.....	XII
Figura D.2 - Crescimento de <i>A. niger</i> ao fim de 7 dias sobre nas amostras e respetiva biomassa.....	XIV
Figura E.1 – Temperatura e Humidade Relativa obtidos entre 21 de Abril e 30 de Maio. Antes de 15 de Abril os valores foram obtidos de 12 em 12 horas. Depois de 15 de Abril foram obtidos de 30 em 30 min.....	XV
Figura E.2 – Temperatura e humidade relativa medidos entre 5 de Junho e 31 de Julho. Valores obtidos de 30 em 30 min.....	XV
Figura F.1 - Filmes dos adesivos Não Envelhecidos sobre um fundo preto de a) pasta de Amido, b) Archibond®, c) CMC, d) HPC e e) MC. Todas as imagens têm 22mm de comprimento.....	XVI
Figura F.2 - Filmes dos adesivos Envelhecidos sobre fundo preto de a) pasta de Amido, b) HPC e c) MC (escala = 22 mm de comprimento); sobre fundo branco d) Archibond® (escala = 66mm de comprimento); sobre fundo preto e) CMC (escala = 44mm de comprimento).....	XVI
Figura G.1 – Termogramas de DSC (linha verde – 1ª análise; linha preta – 2ª ensaio análise) e de TGA (linha azul) do Archibond®.....	XVII



## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Método de avaliação do crescimento fúngico sobre as amostras .....	11
Tabela 2 – Valores de viscosidade intrínseca $[\eta]$ , massa molecular média viscosimétrica (Mv) e grau médio de polimerização em número ( $X_n$ ) obtidos para cada adesivo.....	18
Tabela 3 – Coordenadas $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ (média $\pm$ desvio padrão) das amostras controlo e variação das coordenadas obtidas das amostras de adesivo sobre papel. Diferenças de cor ( $\Delta E$ ) discerníveis por um observador inexperiente estão sublinhadas.....	21
Tabela 5 - Crescimento de três espécies de fungos ( <i>A. niger</i> ; <i>A. pullullans</i> ; <i>P. pinophilum</i> ) sobre cinco adesivos aplicados em vidro (Amido, A.S., CMC, HPC, MC), com e sem envelhecimento. O controlo corresponde ao substrato sem adesivo.....	23
Tabela 6 – Crescimento de três espécies de fungos ( <i>A. niger</i> ; <i>A. pullullans</i> ; <i>P. pinophilum</i> ) sobre cinco adesivos aplicados em papel (Amido, A.S., CMC, HPC, MC), com e sem envelhecimento. O controlo corresponde ao substrato sem adesivo.....	24
Tabela 7 – Os resultados obtidos pelas diferentes análises aos adesivos são apresentados nesta tabela em forma de índice decrescente para cada propriedade estudada, tanto para os adesivos N.E como para os E. ....	26

### Anexo

Tabela A.1 - Características físico-químicas e biológicas de adesivos utilizados em conservação e restauro de papel no séc. XXI.....	I
Tabela B.1- Quantidade de adesivo aplicado em papel, filtro e vidro.....	VI
Tabela B.2 – Viscosidade dos adesivos indicada pelos fabricantes .....	VI
Tabela C.1 - Seleção das constantes de M.H.S. para cada adesivo.....	VIII
Tabela C.2 - Observações sobre a dissolução dos adesivos nos respetivos solventes para a medição da viscosidade.....	VIII
Tabela D.1 - Concentração obtida de ADN por Nanodrop.....	XIII
Tabela H.1 – Valores obtidos dos adesivos após atmosfera de vácuo ( $t=0$ ); e atmosferas com Humidade Relativa 50% e 90%.....	XVIII
Tabela I.1 – Valores obtidos na medição de pH.....	XIX
Tabela J.1 – Valores de $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ obtidos dos adesivos aplicados em papel, depois de serem autoclavados. Papel sem adesivo é considerado como controlo.....	XIX
Tabela K.1 – Valores médios obtidos após a medição da área de colonização por ImageJ (%) em substrato de papel.....	XX
Tabela K.2 - Valores médios obtidos após a medição da área de colonização por ImageJ (%) em substrato de vidro.....	XX



## **Lista de abreviaturas, siglas e símbolos**

$\nu$  - vibração de distensão

$\delta$  – vibração de flexão

*A. niger* = *Aspergillus niger*

*A. pullulans* = *Aureobasidium pullulans*

A.S. = Archibond<sup>®</sup> sem suporte (*Unsupported Archibond<sup>®</sup>*)

CMC = Carboximetilcelulose de sódio

DSC = Calorimetria Diferencial de Varrimento (*Differential scanning calorimetry*)

E. = Envelhecido

HPC = Hidroxipropilcelulose

HR = Humidade Relativa

MC = Metilcelulose

MEA = *Malt Extrat Agar*

N.E. = Não Envelhecido

$\varnothing$  = diâmetro

*P. pinophilum* = *Penicillium pinophilum*

PDA = *Potato Dextrose Agar*

TGA = Termogravimetria ou Análise Termogravimétrica (*Thermogravimetric analysis*)





## 1. Introdução

O papel, desde a sua invenção no ano 105 d.C., tem permitido transmitir e guardar informação, continuando a ser um dos substratos mais comuns para este fim [1]. Nos dias de hoje é maioritariamente feito de pasta de madeira, obtida a partir da separação mecânica e/ou química das fibras de celulose da madeira [2]. Como a composição química do papel varia consoante o seu processo de manufatura [3] as suas propriedades físicas, químicas e biorecetivas também variam. Estas propriedades são, contudo, adversamente afetadas com o passar do tempo. A deterioração do papel está dependente de vários fatores intrínsecos, como por exemplo, os materiais e processos usados na sua manufatura, assim como de fatores extrínsecos, como as condições climáticas, níveis de poluição e atividade biológica [1,4].

Dado que grande parte da nossa herança cultural está registada em papel, é muito importante a preservação do mesmo para as gerações futuras. Por vezes, um conservador de papel depara-se com obras que, de forma a salvaguardar o seu valor e informação, requerem a aplicação de materiais externos à obra, entre eles, adesivos.

Os adesivos são designados por substâncias capazes de manter dois materiais unidos por forças interfaciais [5]. Estas forças são definidas como ligações químicas e/ou forças intermoleculares (forças *Van der Waals*) que ocorrem na interface entre o adesivo e o substrato (adesão) e no interior do próprio adesivo (coesão) [6].

Os adesivos são utilizados em conservação e restauro de papel para diversos fins, tais como: a adesão de um material de reforço a áreas danificadas; reparo de rasgos e lacunas; laminação; como agentes de reforço em ações de re-encolagem e consolidação; para fixação de tintas solúveis (protegendo-as de futuros tratamentos aquosos) e também como camada de proteção. Podem ainda ser usados para fixação de rótulos e construção de caixas de arquivo, não estando em contacto direto com a obra [1].

Sendo necessário recorrer a um adesivo, o próximo passo do conservador restaurador é selecionar o adesivo a utilizar. Em conservação e restauro de papel são atualmente usados adesivos constituídos por uma variada gama de polímeros, que podem ser divididos em três grupos: polímeros de origem natural, polímeros semi-sintéticos e polímeros sintéticos. Os adesivos de origem natural são usados há muito tempo em conservação de papel e embora ainda o sejam atualmente, começam a ser substituídos por polímeros semi-sintéticos e sintéticos, com uma menor biorecetividade e maior versatilidade [1].

A seleção do adesivo a aplicar depende de muitos fatores e varia de caso para caso. Está dependente do tipo de intervenção que será realizada (por exemplo, reparo de rasgos ou união de um material

de reforço); do tipo de substrato onde será aplicado (de papel japonês a cartão); da solubilidade do adesivo *versus* solubilidade dos meios de registo na obra a tratar; depende se o adesivo será aplicado apenas provisoriamente (como passo intermédio numa intervenção) ou aplicado com carácter permanente; da experiência e conhecimento do conservador; do orçamento disponível; e do modo de aplicação do adesivo (a quente, a frio, líquido, em gel, em folha).

Por vezes um mesmo adesivo pode ainda ser usado em diversas concentrações ou misturado com outros adesivos para melhorar algumas características, como solubilidade, poder de adesão, viscosidade ou capacidade de penetração no substrato.

As propriedades ideais de um adesivo no contexto de conservação e restauro de papel dependem da especificidade de cada caso, embora haja uma série de qualidades que devem sempre ser tidas em conta, como: pH compatível com o objeto, tanto durante a sua aplicação como com o passar do tempo; a não libertação de compostos voláteis potencialmente prejudiciais para o objeto e/ou para o ser humano; a inércia química com o substrato; o longo período de utilização; a estabilidade de cor ao longo do tempo; e propriedades físicas adequadas (e.g. força, flexibilidade, encolhimento, etc.) que permitam um suporte suficiente ao substrato, mas sem induzir dano mecânico no objeto; a reversibilidade, ou seja, facilidade na remoção, mesmo anos após a aplicação inicial, sem ser necessário o recurso a medidas que agravem o estado de conservação da obra; e uma baixa biorecetividade [1,5,7].

Uma das características mais importantes e pouco estudadas dos adesivos é a sua biorecetividade. Esta pode ser descrita como a capacidade de um material ser colonizado por um ou mais organismos vivos, ou como a totalidade de propriedades materiais que contribuem para o estabelecimento, fixação ou desenvolvimento de fauna e/ou flora. A biorecetividade pode ser dividida em três fases: primária, que corresponde à aptidão inicial de um material inalterado para ser colonizado; secundária, em que o material já sofreu processos de degradação naturais e/ou colonização; e terciária, onde o material foi alterado por processos humanos (por exemplo, adição de biocidas) [8].

O papel é muitas vezes associado a uma elevada biorecetividade devido à sua composição orgânica e elevada capacidade de absorção de água [2,9,10]. Dos microrganismos que podem colonizar o papel, os fungos são a principal causa de deterioração de bens culturais feitos ou suportados por papel. Em condições de humidade relativa (HR) superiores a 65% e 20°C de temperatura, grande parte dos fungos filamentosos conseguem desenvolver-se usando o papel como meio de crescimento, afetando o valor cultural do objeto [9]. A atividade microbiológica, para além de afetar a aparência visual do objeto (e.g. descoloração, manchas, pátinas), pode também alterar a sua estrutura física e química [9]. É então necessário que o conservador esteja consciente que ao aplicar um adesivo sobre papel está a alterar a biorecetividade do próprio objeto.

Embora os adesivos usados em conservação de papel estejam bastante caracterizados na literatura, a sua biorecetividade ou tendência para sofrer um ataque biológico raramente é avaliada ou mencionada. Ainda assim, para além do número reduzido de estudos sobre o tema [11,12] a informação disponível nem sempre é comparável ou coerente, sendo mesmo inexistente para alguns adesivos. Além disso, a biorecetividade secundária, ou seja, o potencial de um adesivo já envelhecido e/ou colonizado, não é sequer referido na literatura atual, tanto quanto é do nosso conhecimento.

De forma a colmatar esta lacuna na informação, o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar características químicas e biorecetividade (primária e secundária) de adesivos usados atualmente em conservação e restauro de papel. Para atingir este objetivo foram necessárias as seguintes etapas:

1. Mini-revisão da literatura relativa aos adesivos usados atualmente em conservação de papel;
2. Seleção de cinco adesivos a testar;
3. Seleção do substrato para aplicação do adesivo;
4. Seleção de três espécies de fungos filamentosos para utilizar como colonizadores sobre os adesivos;
5. Avaliação das características dos adesivos selecionados utilizando diversas metodologias (com e sem envelhecimento artificial);
6. Estudo da biorecetividade primária (sem envelhecimento) e biorecetividade secundária (adesivos sujeitos a envelhecimento artificial) a três fungos selecionados;
7. Estabelecimento de índices de avaliação relativos às metodologias utilizadas neste trabalho (ex. índice de biorecetividade, pH, alteração cromática...)

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Mini-revisão da literatura: adesivos mais utilizados atualmente em conservação e restauro de papel

De modo a selecionar os adesivos a serem utilizados neste trabalho, foi necessário realizar um primeiro levantamento sobre os adesivos que são usados atualmente em conservação de papel. Embora haja uma grande variedade de adesivos na literatura [5,7,13], uma grande parte pode já não ser indicado para conservação e restauro de papel face aos conhecimentos atuais e/ou porque deixou de estar disponível no mercado. Como mencionado previamente, os adesivos podem ser usados para diversas funções. Para o presente estudo foram selecionados apenas os adesivos utilizados para colagem entre dois papéis, quer no reparo de rasgos e lacunas, quer em operações de laminação e reforço. Foram excluídos os adesivos utilizados para fixação/consolidação de pigmentos e na realização de caixas de acondicionamento. Assim, foram identificados nove adesivos atualmente utilizados em conservação de obras em papel (pasta de Amido, gelatina, Funori, Carboximetilcelulose com sódio (CMC), Hidroxipropilcelulose (HPC), Etilhidroximetilcelulose (MHEC), Metilcelulose (MC), *Archibond Heat set tissue*<sup>®</sup> e o *Filmoplast R*<sup>®</sup>). No Anexo A, a tabela A.1 contém informação recolhida sobre os adesivos relativa à sua composição e descrição química, nome comercial, solubilidade, reversibilidade, pH, biorecetividade, cor e data de utilização.

### 2.2. Seleção dos adesivos

Para o estudo que aqui se apresenta, dos nove adesivos identificados (*vd.* Capítulo 2.1) foram selecionados para comparação os cinco mais utilizados em conservação de papel [1]: pasta de Amido, *Archibond*<sup>®</sup>, Carboximetilcelulose (CMC), Hidroxipropilcelulose (HPC) e Metilcelulose (MC). O Amido é um polímero de origem natural, composto por unidades de glucose [5]. É o adesivo mais usado por conservadores de papel a nível internacional [14] e tem uma elevada tendência a ser colonizado por organismos (*vd.* anexo A). A CMC é produzida pela reação de “celulose alcalina” - celulose que reagiu com uma solução alcalina, por exemplo, hidróxido de sódio (NaOH) e ácido cloroacético (Cl-CH<sub>2</sub>-COOH). Com este composto é possível obter-se soluções viscosas a baixas concentrações e, ao contrário de outros derivados de celulose, contém na sua composição iões de sódio (Na<sup>+</sup>) [15]. A HPC, produzida pela reação de celulose alcalina e óxido de propileno, pode ser dissolvida tanto em água como em etanol, sendo uma opção muito útil em tratamentos não aquosos. A MC, produzida pela reação de celulose alcalina e clorometano (CH<sub>3</sub>Cl), é o segundo adesivo mais usado por conservadores de papel, sendo normalmente dissolvido em água [14,15];

Dado que por vezes é necessário recorrer a adesivos termofusíveis na intervenção de um objeto, para este estudo foi selecionado o *Archibond*<sup>®</sup>, um polímero acrílico. Embora seja mais comum os adesivos termofusíveis para conservação de papel serem comercializados aderidos a um suporte de papel japonês [10], optou-se por estudar a variante sem suporte (*Unsupported Archibond*<sup>®</sup>) para

diminuir o número de variáveis e permitir uma melhor comparação com os restantes adesivos, também sem qualquer suporte adicional. Preparação dos adesivos sobre os substratos e em filme encontram-se no Anexo B.

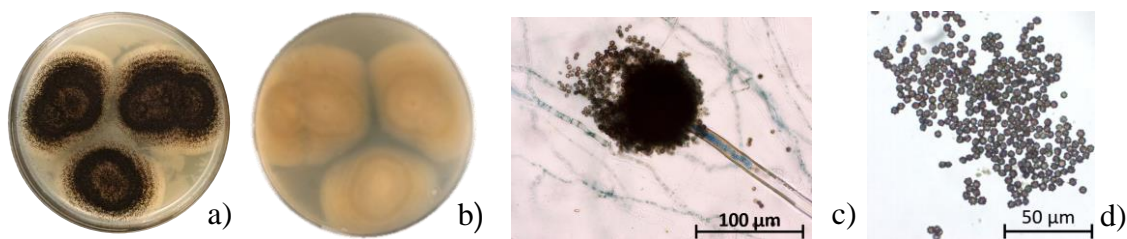
### 2.3. Seleção do substrato

Foram selecionados dois substratos para os adesivos: papel e vidro. O papel (Whatman® #1 – sem aditivos e com elevada concentração de celulose (98% m/m) foi selecionado por ser um substrato que se aproxima de uma situação real de aplicação em obra. No entanto, como o objetivo deste trabalho é avaliar a biorecetividade dos adesivos, e de modo a observar o seu comportamento sem a influência da biorecetividade própria do papel, os adesivos foram igualmente aplicados em caixas Petri de vidro de borossilicato (150x25mm, Normax), transparentes, incolores e resistentes a altas temperaturas, que não constituem uma fonte de alimento para fungos durante o período de tempo deste trabalho.

### 2.4. Seleção de espécies fúngicas

O critério de seleção dos fungos teve em consideração o facto de serem fungos previamente identificados em papel [16] e conhecidos por colonizar em polímeros de origem natural e sintéticos. Além destes critérios recorreu-se ainda a duas normas ASTM [17,18] que avaliam a capacidade de adesivos em filme e polímeros sintéticos suportarem e/ou resistirem ao crescimento de fungos. Selecionaram-se as seguintes espécies: *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* e *Penicillium pinophilum*.

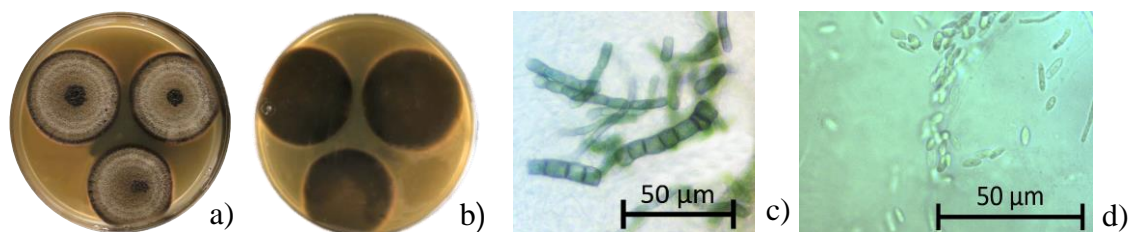
*Aspergillus niger* (*A. niger*) é uma das espécies mais comuns do género *Aspergillus*. É um ascomi-ceto filamentoso capaz de desenvolver colónias em menos de 7 dias, produzindo um micélio branco ou amarelado que fica coberto por uma camada de cabeças conidiais ou de esporos de cor castanho escuro a preto (fig. 1, a)) [19]. O verso da colónia é normalmente amarelo (fig. 1, b) [20].



**Figura 1** - Colónias de *A. niger* em PDA (meio de *Potato Dextrose Agar*), 7 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. *A. niger* c) conidióforo e d) conídios/esporos (escala a 100 e 50 µm respetivamente).

*A. niger* é um das espécies fúngicas mais frequentemente identificadas em suporte de papel [16]. Esta espécie tem a capacidade de colonizar tanto polímeros naturais como polímeros sintéticos, permitindo assim uma comparação entre vários adesivos [21,22].

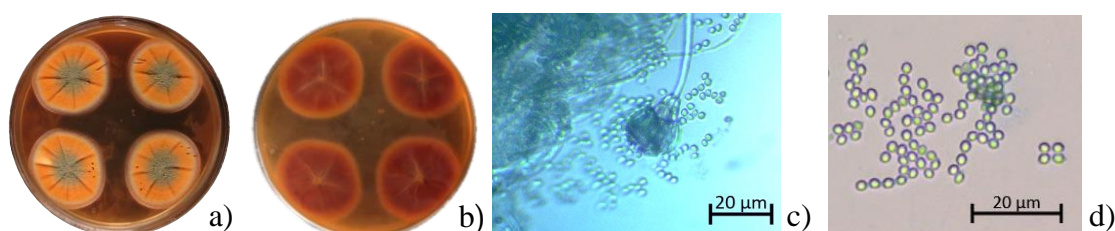
*Aureobasidium pullulans* (*A. pullulans*) é um fungo mucoso que inicialmente apresenta um tom ligeiramente rosado, castanho claro ou amarelo, tornando-se progressivamente cinzento e preto (fig. 2 a)). O verso costuma ter cores semelhantes (fig. 2 b)). Consegue crescer entre 2 e 35°C, com uma temperatura ótima a 25°C [20].



**Figura 2** - Colónias de *A. pullulans* em MEA (meio de *Malt Extract Agar*), 21 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. *A. pullulans* c) hifas e d) conídios (escala = 50 µm).

*A. pullulans* é muitas vezes encontrado a colonizar produtos de madeira, incluindo papel [16,18]. É também identificado a colonizar plásticos e tintas e é um contaminante comum em acabamentos de superfície [18].

*Penicillium pinophilum* (*P. pinophilum*) apresenta conidióforos verde-escuros e embora o micélio seja branco nas extremidades, maioritariamente este tem uma cor amarelada e é produzido com relativa densidade em quase toda a área de colonização (fig. 3 a)). O verso é castanho e vermelho (fig. 3 b)). *P. pinophilum* é conhecido por deteriorar plástico [18] e também já foi identificado a colonizar papel [16,23]



**Figura 3** - Colónias de *P. pinophilum* em MEA, 21 dias, 25°C, a) frente e b) verso. Placa Petri = 90mm. *P. pinophilum* c) conidióforo, fiálide e conídios d) conídios (escala = 20 µm).

*A. niger* foi obtido da coleção do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (Lisboa, Portugal). *A. pullulans* e *P. pinophilum* foram obtidos da Micoteca da Universidade do Minho (Braga, Portugal).

## 2.5. Caracterização química dos adesivos selecionados

De modo a compreender e/ou relacionar as características químicas dos adesivos e a sua biorecetividade, foram realizadas análises de: FTIR-ATR, viscosidade (reómetro e viscosímetro capilar), higroscopicidade, pH, colorimetria, termogravimetria (TGA) e ainda calorimetria diferencial de varrimento (DSC) para o Archibond®.

Os adesivos foram estudados em solução (reómetro e viscosímetro capilar), em filme (FTIR, higroscopicidade e análises térmicas (TGA e DSC)), aplicados sobre papel (colorimetria, pH, biorecetividade) e aplicados sobre vidro (biorecetividade). A descrição do método de aplicação dos adesivos encontra-se no Anexo B.

Também foi avaliado o envelhecimento artificial dos adesivos em suporte de papel, vidro e em filme, baseado na norma ISO relativa ao envelhecimento de papel e cartão (ISO 5630/3:1986). As amostras foram sujeitas a  $80^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $65\% \pm 2\%$  HR durante 504 horas, numa Câmara de Envelhecimento Fitoclima 150 EDTU, Cimaplus IV. Os testes de envelhecimento artificial não permitem obter uma correspondência direta com os processos de degradação naturais [24] e portanto, este estudo apenas permite fazer uma comparação relativa entre amostras. Ao longo do trabalho, as amostras encontram-se divididas em dois grupos: Não Envelhecidas (N.E.) e Envelhecidas (E.)

#### **2.5.1. Análises Térmicas (TGA e DSC)**

A estabilidade térmica das amostras Não Envelhecidas em filme foi avaliada por TGA tendo-se utilizado um equipamento da marca TA Instruments, modelo TGA Q500. O estudo foi realizado sob atmosfera de nitrogénio no intervalo de temperaturas entre 25 e  $500^{\circ}\text{C}$  a uma taxa de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Foi ainda utilizada calorimetria diferencial de varrimento (DSC) como técnica complementar para identificação da composição (ex. mistura de polímeros ou copolímero) do *Archibond*<sup>®</sup>.

#### **2.5.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)**

Os espectros de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos no modo de refletância total atenuada (ATR) com um espectrómetro de infravermelho Agilent Technologies 4300 Handheld. Todos os espectros foram obtidos entre  $4000$  e  $650\text{ cm}^{-1}$  com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e 64 varrimentos.

#### **2.5.3. Viscosidade**

##### Reologia (viscosidade aparente)

Foram aplicados aproximadamente 2ml de cada solução num reómetro rotacional Bohlin Gemini HR<sup>NANO</sup>. As medições foram obtidas com uma geometria de pratos paralelos, com 40mm Ø. A viscosidade (Pas) foi medida ao longo do tempo (544s) e com um aumento da taxa de corte aplicada, entre 0 e  $497\text{ s}^{-1}$ . Todas as medidas foram efetuadas à temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ . Os adesivos foram preparados a 4% (m/v) em água, com exceção do *Archibond*<sup>®</sup> e a HPC, preparados em etanol.

### Viscosimetria Capilar (viscosidade intrínseca)

A massa molecular dos adesivos foi determinada utilizando um viscosímetro capilar de Übbelohde 1C. Para cada adesivo foi selecionado um solvente e respectivas constantes de Mark-Houwink-Sakurada (M.H.S.) (vd. Anexo C). No caso da pasta Amido e do *Archibond*<sup>®</sup>, por não haver constantes específicas para estes materiais, utilizou-se valores de compostos semelhantes, ou seja, a amilose e Poli (metacrilato de etilo) (P(EMA)) respetivamente.

#### **2.5.4. Higroscopia**

O protocolo de higroscopia foi adaptado da norma ASTM D-280-01 [25]. Pesou-se 0,1g de cada adesivo em filme dentro de um pesa-filtros (60x40mm, Linex) cujo peso com tampa é conhecido. Preparou-se três réplicas para cada adesivo. Para determinação da *Massa inicial* (massa seca), as amostras foram secas em vácuo ( $15 \pm 5$  mBar) durante 24 horas. Posteriormente foi medido a massa das amostras após 24 horas em exsicadores estabilizados a  $50 \pm 5\%$  HR (*Massa final 50%* - através de uma solução saturada de nitrato de cálcio) e a  $90 \pm 5\%$  HR (*Massa final 90%* - através da colocação de um recipiente com água destilada). Em todas as fases as amostras eram mantidas nos exsicadores dentro dos pesa-filtros com a tampa aberta, sendo fechados de seguida para a pesagem. Cada amostra foi pesada de hora a hora até que a diferença de peso fosse inferior a 0,01g e calculada a média para as três réplicas. A higroscopicidade é avaliada pela capacidade de absorção de água, e foi calculada através da seguinte equação (1) [26]:

$$\text{Absorção de água do adesivo \%} = \frac{\text{Massa final} - \text{Massa inicial}}{\text{Massa inicial}} \times 100 \quad (1)$$

#### **2.5.5. Determinação de pH**

A medição de pH das amostras sobre papel (Whatman<sup>®</sup> #1) foi realizada através do método de extração a frio, baseado na norma TAPPI 509 [27], sendo o pH do próprio papel usado como controlo. Pesou-se 0,1g de cada amostra (previamente recortada em pequenos pedaços) que foram colocados dentro de um tubo falcon de 15ml (Deltalab). Adicionou-se com uma micropipeta (Finnpipette) 0,05ml de água millipore<sup>®</sup>, macerou-se o papel com uma vareta de vidro e acrescentou-se mais água até atingir os 7 ml. Para homogeneizar a amostra, o tubo é fechado e colocado no vortex (VWR vv3). No total, obteve-se 36 amostras (18 com e 18 sem envelhecimento) que foram deixadas em repouso durante uma hora na sala de medição de pH. Calibrou-se o eletrodo (Docu-pH Meter, Startorius) e efetuaram-se três medições em cada tubo.

#### **2.5.6. Colorimetria**

Para medição da cor as amostras foram preparadas sobre papel (Whatman<sup>®</sup> #1). Utilizou-se um colorímetro Data Color International<sup>®</sup> com o iluminante D65 e Standard Observer a 10°, de acordo



com o sistema CIE L\*a\*b\*. Antes do procedimento calibrou-se o colorímetro. Colocou-se um papel Whatman® na bancada como base para todas as medições. Realizou-se uma máscara em filme de poliéster transparente (Melinex®), para realização das medições sempre nos mesmos três pontos de cada amostra, e em triplicado em cada ponto.

O sistema CIE L\*a\*b\* é definido pelas coordenadas: L\*, que representa o nível de luminosidade (L\* = 100 = branco; L\* = 0 = preto); a\*, que representa a diferença entre vermelho (+ a\*) e o verde (- a\*); e b\*, que representa a diferença entre o amarelo (+ b\*) e o azul (- b\*). As variáveis L\*, a\* e b\* (representadas por  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) permitem calcular a variação total da cor ( $\Delta E$ ):  $\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$  (2) [28,29].

## **2.6. Avaliação do crescimento fúngico sobre os adesivos (biorecetividade)**

Para a medição da biorecetividade primária e secundária de adesivos em relação a fungos filamentosos, é fundamental ter uma avaliação eficaz do crescimento fúngico. No entanto, esta avaliação pode tornar-se bastante complexa devido a vários fatores como: o carácter multicelular dos fungos filamentosos selecionados, a opacidade ou transparência do substrato, as características de cada adesivo, as condições atmosféricas a que estiveram expostas, entre outros. Ainda não existe um método de quantificação de fungos em papel totalmente satisfatório [16], sendo muitas vezes necessário usar dois ou mais métodos complementares.

Para este trabalho começou-se por testar dois métodos para a quantificação de fungos: quantificação de ADN extraído usando NanoDrop ND-1000 e determinação do peso de biomassa seca. A quantificação de ADN usando o espectrómetro NanoDrop é um método rápido que permite quantificar pequenas amostras (1-3 µl) de ADN [30] e foi testado pela primeira vez como método de quantificação de crescimento fúngico (*vd.* Anexo D). No entanto, verificou-se que o método de quantificação de ADN dependia da eficácia do passo prévio de extração de ADN dos fungos inoculados sobre os adesivos, o que não permitia garantir que a extração de ADN obtida fosse igual para todos os adesivos e que correspondesse à concentração real.

A determinação do peso de biomassa seca é um método destrutivo, mas tem em conta a densidade das colónias e não apenas a sua extensão de crescimento sobre o papel. A determinação do peso da biomassa, por sua vez, não apresentou sensibilidade suficiente para a avaliação do crescimento dos fungos sobre os adesivos neste estudo, como apresentado no Anexo D.

Foi então selecionado um método de medição de área de colonização recorrendo à análise de imagem digital. É um método simples, não destrutivo e com uma alta sensibilidade e correlação com o peso da biomassa seca, como verificado por Sequeira [16]. Consiste em calcular a área através de fotografias e de um programa de análise de imagens (ImageJ) sendo a percentagem da colonização

obtida através da razão entre a área colonizada e a área total. No entanto, esta técnica não tem em consideração o crescimento fúngico no interior da matriz do papel e a densidade da colónia. Há ainda a dificuldade de distinguir o papel branco e o vidro transparente do micélio branco.

#### Preparação das amostras para inoculação

As amostras de papel com adesivo foram deixadas a secar sobre Reemay® e dentro da câmara de fluxo laminar durante aproximadamente 1 hora. Após secagem foram envolvidas individualmente em bolsas de alumínio e esterilizadas na autoclave. Após a esterilização e dentro da câmara de fluxo laminar, cada amostra foi colocada numa caixa Petri (90x14mm, Deltalab) usando uma pinça esterilizada. As amostras aplicadas sobre vidro foram colocadas dentro da câmara de fluxo laminar durante aproximadamente 1 hora com tampa aberta. Após secagem, as placas foram fechadas, envoltas em papel de alumínio e esterilizadas na autoclave.

#### Preparação do inóculo

Estirpes fúngicas de *Aspergillus niger* foram preparadas em meio de *Potato Dextrose Agar* (PDA) e de *Aureobasidium pullulans* e *Penicillium pinophilum* foram colocadas a crescer em meio de *Malt Extract Agar* (MEA), por este meio ser o mais adequado ao crescimento destas espécies. As três espécies foram incubadas a 25 °C entre 7 a 20 dias. Os esporos foram colhidos com 0,05% de Tween 80® (Panreac)

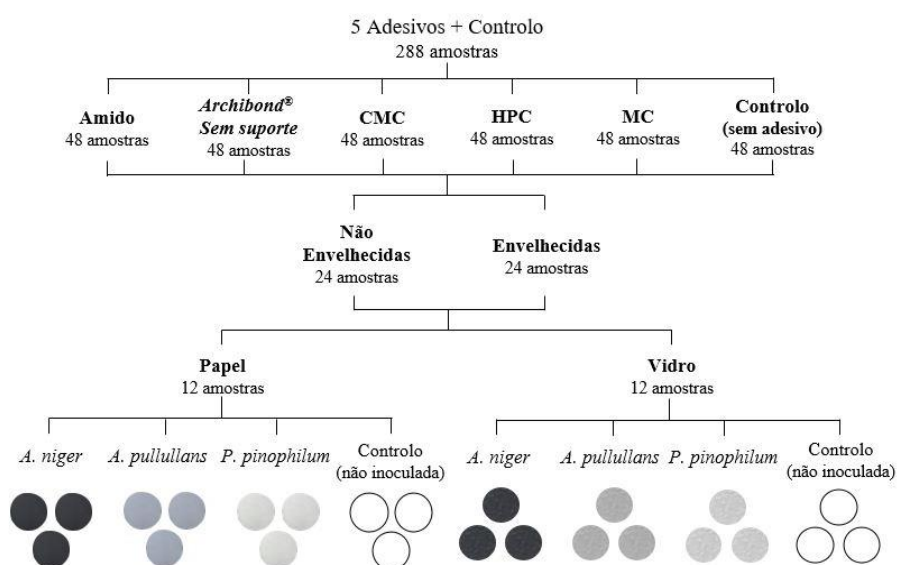
esterilizado, em que 150 µl desta solução era pipetada sobre a superfície da colónia e os esporos em suspensão eram recolhidos com a pipeta.

O inóculo foi preparado numa concentração de  $1 \times 10^6$  esporos/ml através da utilização de um hemocítom

etro e aplicado num volume de 10µl em cada amostra (fig. 4).

#### Incubação das amostras

Após a inoculação, todas as amostras foram deixadas dentro de uma caixa de acrílico selada durante 56 dias, com água destilada na base para manter a humidade relativa (HR) próxima dos 100%. O



**Figura 4** - Desenho experimental com o número de amostras em papel e vidro inoculadas com as três espécies fúngicas.

objetivo é manter um ambiente com uma HR elevada e favorável ao crescimento dos fungos inoculados (superior a 65 %). A temperatura seria controlada pelo ar condicionado da sala de ensaio. Para a aquisição de HR e T foi colocado um termohigrómetro *datalogger* (EI-USB-2) dentro da caixa (vd. Anexo E). As amostras Não Envelhecidas, entre 20.3.2017 e 17.5.2017, estiveram num ambiente a  $21,4 \pm 2,8$  °C e  $96,4 \pm 2,2$  % HR. As amostras Envelhecidas, entre 5.6.2017 e 31.7.2017, estiveram num ambiente a  $22,6 \pm 2$  °C e  $86,2 \pm 18,4$  % HR.

#### Medição da área de colonização

As amostras foram fotografadas nove vezes (0 (antes da inoculação), 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias) dentro da câmara de fluxo laminar, com a tampa das caixas Petri aberta. Foi colocado sobre a base da câmara uma folha de papel milimétrico como escala, um quadrado preto para contrastar com o branco do papel das amostras e uma escala de cinzentos (QPcard 101). A câmara fotográfica (Canon PowerShot SX240 HS), colocada num tripé, foi mantida sempre à mesma distância das amostras. As amostras foram fotografadas em luz direta usando-se com fonte de luz a lâmpada fluorescente da câmara de fluxo laminar. No final, são recolocadas aleatoriamente na caixa de acrílico. As áreas de colonização de fungos foram calculadas no software ImageJ (ImageJ 1.51j8, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) usando a ferramenta *freehand*. A média da área de colonização de cada amostra foi usada para a avaliação de crescimento final. Apenas a colonização sobre o papel/vidro/adesivo foi contabilizada. Para a avaliação visual do crescimento sobre as amostras foi usada a classificação resumida na Tabela 1, criada com base na literatura [17]:

**Tabela 1** – Método de avaliação do crescimento fúngico sobre as amostras.

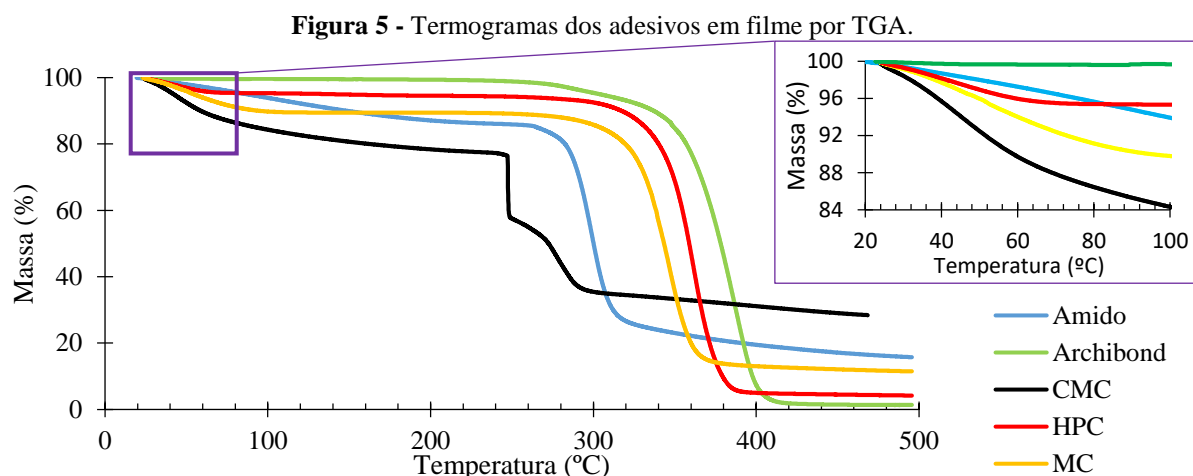
<i>Crescimento observado das espécies (por área colonizada)</i>	<i>Área de Crescimento (%)</i>	<i>Classificação</i>
<i>Sem crescimento</i>	0	0
<i>Vestígios de crescimento na mancha de inóculo</i>	$\leq 2$	1
<i>Vestígios de crescimento</i>	2 - 10	2
<i>Pouco crescimento</i>	10 - 30	3
<i>Crescimento moderado</i>	30 - 60	4
<i>Elevado crescimento</i>	60 - 100	5

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Caracterização química dos adesivos

##### 3.1.1. Análise Térmica (TGA)

De modo a verificar se os adesivos sofreram mudanças estruturais durante o envelhecimento artificial e nos processos de esterilização, realizou-se análises térmicas aos adesivos em filme, o que permitiu observar variações de massa em função da temperatura. Na fig. 5, observa-se que até aos 100°C todos os adesivos com exceção do *Archibond*<sup>®</sup> têm um ligeiro decréscimo de massa (%). Esta diminuição de massa está muito provavelmente relacionada com a perda de água que ainda estaria presente no filme, o que se verifica com os resultados obtidos por higroscopia (vd. capítulo 3.1.4). A 80°C (temperatura usada para o envelhecimento artificial), a perda de massa nos adesivos segue a seguinte ordem decrescente: CMC > MC > HPC e Amido > *Archibond*<sup>®</sup> o que corresponde também à ordem decrescente de afinidade dos adesivos para absorção de água (vd. capítulo 3.1.4).

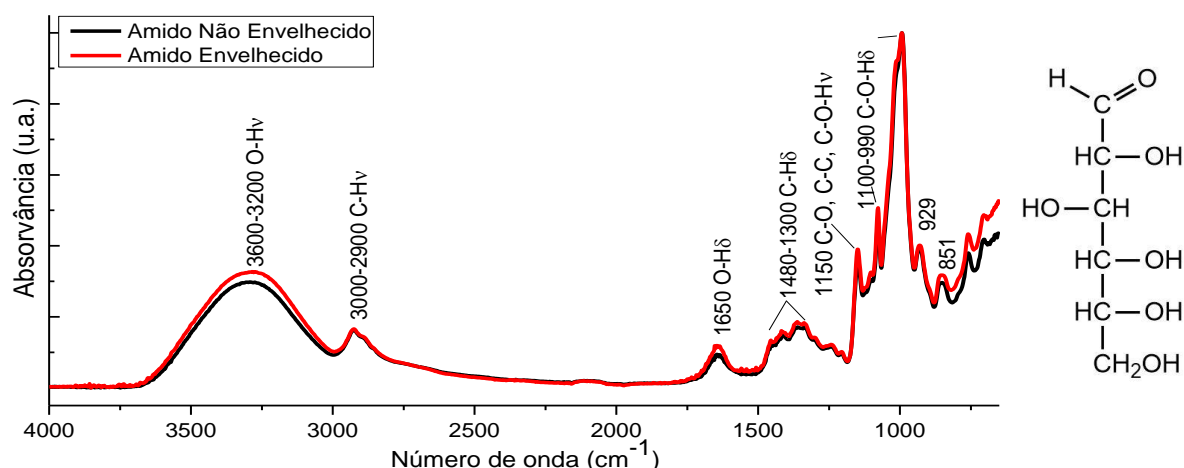


##### 3.1.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Através das análises de FTIR-ATR foi possível caracterizar molecularmente os adesivos e analisar alterações ocorridas com o envelhecimento artificial.

##### Amido

O Amido (fig. 6) apresenta as seguintes bandas características: distensão do grupo O-H ( $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ ), distensão do grupo C-H ( $3000\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ ), flexão O-H ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ), flexão do grupo C-H ( $1480\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ ), distensão das bandas C-O, C-C e C-O-H ( $1150\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ ) e flexão do grupo C-O-H ( $1100\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ ) [31,32]. O envelhecimento artificial não causou alterações a nível molecular no adesivo que fossem detetáveis por este método.



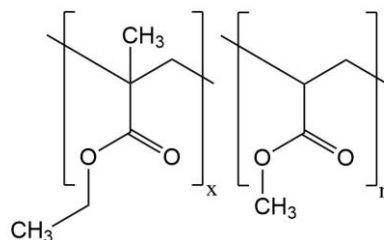
**Figura 6** - Espectros de FTIR normalizado do adesivo Amido em filme Não Envelhecido e Envelhecido. Do lado direito encontra-se a estrutura química de  $\alpha$ -D-glucose (cadeia linear) [5].

### Archibond® sem suporte

Como descrito no Anexo F, o filme de *Archibond*® Envelhecido aparenta um ligeiro amarelecimento, que é mais acentuado no centro do filme. Desta forma, as análises de FTIR foram realizadas em duas zonas distintas: na periferia da amostra (Envelhecido zona incolor) e no centro da amostra, tendo-se obtido dois espectros distintos (Envelhecido zona amarela 1 e 2).

O adesivo comercial *Archibond*® sem suporte vem indicado pelo fabricante como sendo composto por dois adesivos: Texicryl® e Paraloid®. Embora estes adesivos tenham várias formulações possíveis é habitual conterem polímeros de acrilato de metilo (MA) e metacrilato de etilo (EMA) [13]. Esta informação é corroborada também por Down [33], que identifica o *Archibond*® sem suporte como PMA/PEMA. Verifica-se ainda que o espectro deste adesivo é também ele muito semelhante a espectros padrão do P(EMA/MA) assim como do adesivo Paraloid B-72 (composto pelo mesmo copolímero) [31,34].

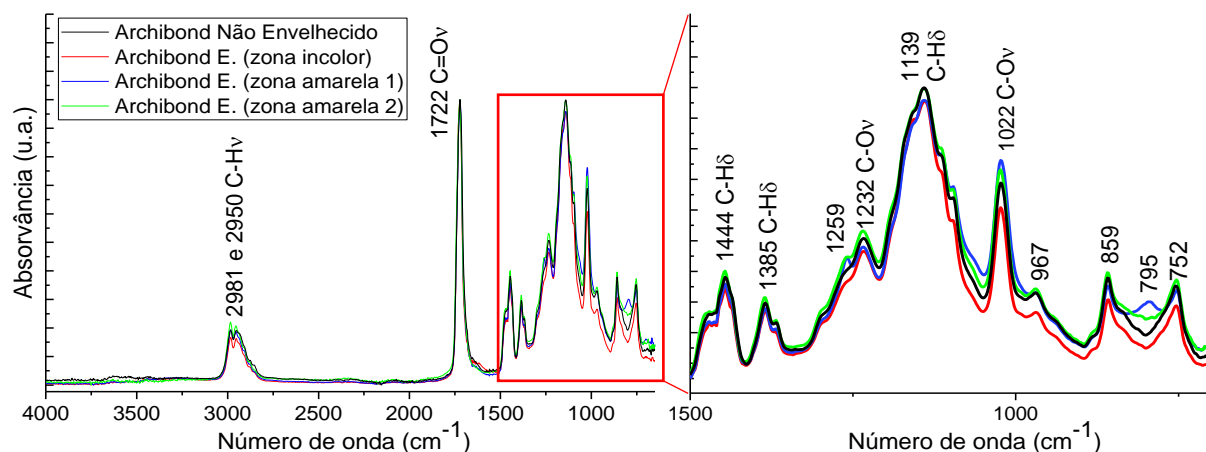
De acordo com a análise de DSC realizada (vd. Anexo G), o *Archibond*® sem suporte foi identificado como sendo um copolímero (metacrilato de etilo/ acrilato de metilo) (P(EMA/MA), do inglês *Copoly (Ethyl Methacrylate/ Methyl Acrylate)* (fig. 7 e 8). As bandas características destes polímeros foram identificadas nos espectros realizados: distensão do grupo C-H ( $2981$  e  $2950\text{ cm}^{-1}$ ), distensão do grupo C=O ( $1722\text{ cm}^{-1}$ ), distensão do grupo C-O ( $1232$  e  $1023\text{ cm}^{-1}$ ) e flexão dos grupo C-H ( $1444$ ,  $1385$  e  $1139\text{ cm}^{-1}$ ) [10,32].



**Figura 7** - Poli (metacrilato de etilo/acrilato de metilo) (P(EMA/MA)) [33].

Relativamente ao envelhecimento do adesivo, foi possível obter-se três espectros diferentes no adesivo Envelhecido: dois em zonas mais amarelas no centro do filme (E. zona amarela 1 e 2) e um

numa zona mais periférica e menos amarelecida (E. zona incolor). Todos os espectros apresentam as mesmas bandas características sendo a única exceção, os espectros das zonas amarelas 1 e 2 (azul e verde) que apresentam uma banda a  $795\text{ cm}^{-1}$  geralmente associada à deformação C-H (*rocking*) do grupo  $\text{CH}_2$ . Tendo em conta a intensidade das bandas verifica-se que o espectro a zona amarela 2 (verde) correspondente ao adesivo Envelhecido é muito semelhante ao espectro do adesivo Não Envelhecido. Ao mesmo tempo, o espectro do adesivo Envelhecido (zona incolor) apresenta uma maior diferença de intensidade em relação ao Não Envelhecido.

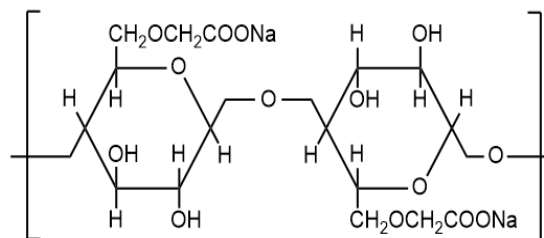


**Figura 8** - Espectros de  $\mu$ -FTIR normalizados do adesivo *Archibond*® sem suporte em filme Não Envelhecido, Envelhecido zona incolor, Envelhecido zona amarela 1 e Envelhecido zona amarela 2.

O facto de se ter obtido três espectros diferentes após o envelhecimento artificial sugere que o mecanismo de degradação do *Archibond*® seja complexo. Como a composição deste adesivo não é conhecida com precisão (por ser um copolímero e um produto comercial), embora os espectros mostrem que houve uma ligeira alteração estrutural, a análise por FTIR não permite identificar a alteração ocorrida.

### Carboximetilcelulose (CMC)

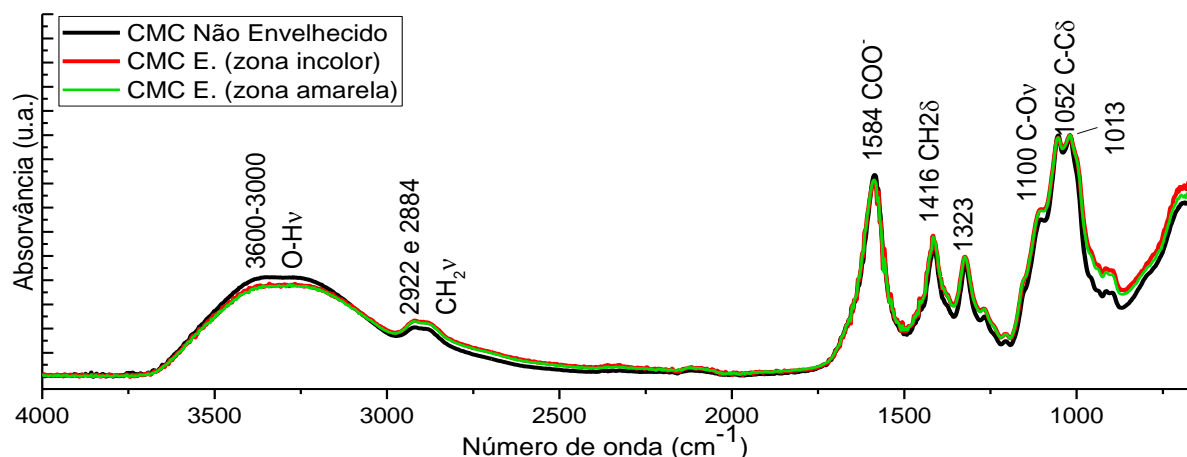
O CMC é um éter de celulose (fig. 9 e 10) com as seguintes bandas características: distensão da banda O-H ( $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ), distensão assimétrica do grupo C-H ( $2922\text{ cm}^{-1}$ ), distensão do grupo  $\text{COO}^-$  (distensão simétrica a  $1584\text{ cm}^{-1}$  e assimétrica a  $1414\text{ cm}^{-1}$ ), flexão do grupo O-H ( $1323\text{ cm}^{-1}$ ), distensão do grupo CH-O-CH ( $1052\text{ cm}^{-1}$ ) [35–37].



**Figura 9** - Estrutura idealizada da Carboximetilcelulose (CMC) [14].

Em relação ao envelhecimento, o filme de CMC envelhecido passou a apresentar um ligeiro tom amarelado em particular nas zonas mais espessas como verificado pela observação macroscópica e mais tarde confirmado pela colorimetria (*vd.* Anexo F).

Pela observação do espectro (fig. 10) não é possível identificar uma diferença entre as zonas mais amarelas e espessas (espectro verde) e zonas mais incolores e finas (espectro vermelho), ou seja, não há diferenças moleculares, detetáveis por esta técnica, no filme de CMC.

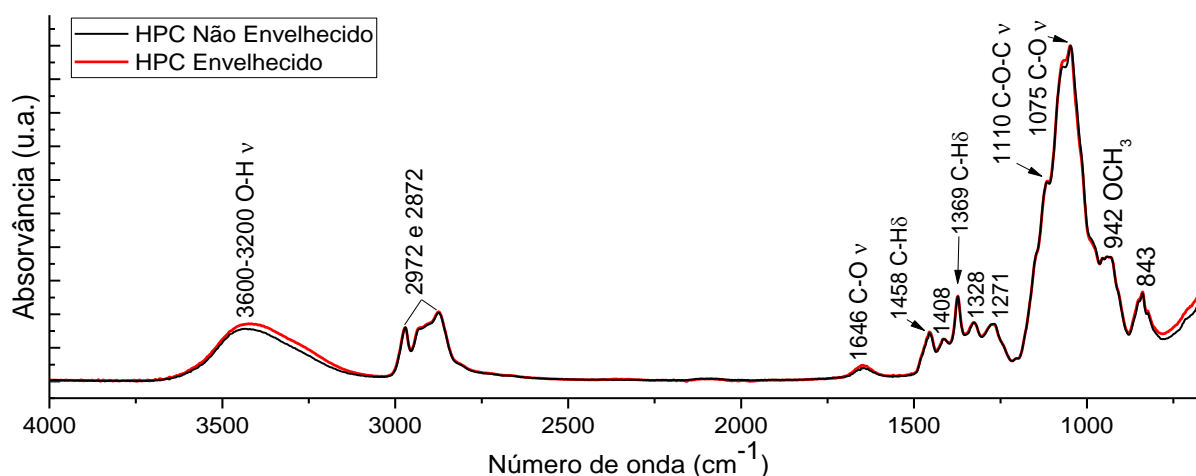


**Figura 10** - Espectros de FTIR normalizado do adesivo Carboximetilcelulose (CMC) em filme Não Envelhecido, Envelhecido (zona incolor) e Envelhecido (zona amarela).

Entre o filme Envelhecido e o Não Envelhecido as bandas características são as mesmas, havendo por vezes uma ligeira diminuição de intensidade na banda  $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  e um aumento nos números de onda  $2922$ ,  $2884$  e  $1100\text{ cm}^{-1}$ .

### Hidroxipropilcelulose (HPC)

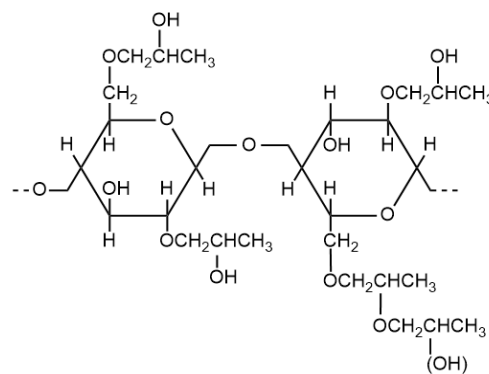
A Hidroxipropilcelulose (HPC) é um éter de celulose (fig. 11 e 12) com as seguintes bandas características: distensão da banda O-H ( $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ ), distensão da banda  $\text{CH}_3$  ( $2972\text{ cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-O ( $1646\text{ cm}^{-1}$ ,  $1075\text{ cm}^{-1}$  e distensão dos anéis em  $942\text{ cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-H ( $1458$  e  $1369\text{ cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-O-C ( $1110\text{ cm}^{-1}$ ) e deformação da banda C-H ( $843\text{ cm}^{-1}$ ) [38-42].



**Figura 11** – Espectros de FTIR normalizado do adesivo Hidroxipropilcelulose (HPC) em filme Não Envelhecido e Envelhecido [14].

Em relação ao envelhecimento do adesivo, os espectros Não Envelhecido e Envelhecido são semelhantes, como se pode observar na (fig. 11), havendo apenas um ligeiro aumento de intensidade na banda 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$ .

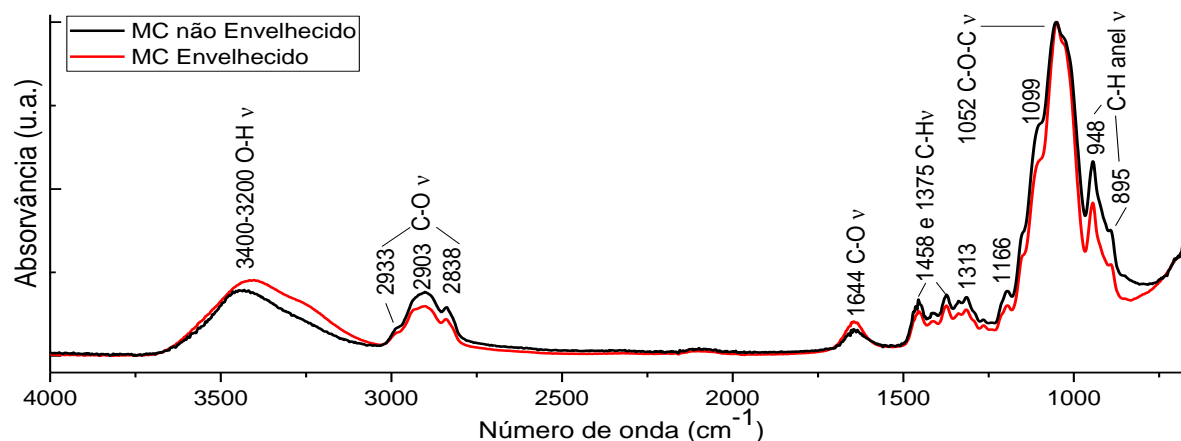
Assume-se que o envelhecimento artificial não causou alterações a nível molecular no adesivo, detetáveis por este método.



**Figura 12** - Estrutura idealizada da Hidroxipropilcelulose (HPC) [14].

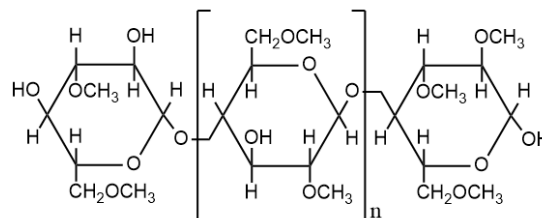
### Metilcelulose (MC)

A Metilcelulose (MC) (fig. 13 e 14) é um éter de celulose com as seguintes bandas características: distensão da banda O-H (3400-3200  $\text{cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-H (assimétrica a 2933  $\text{cm}^{-1}$ , 2903  $\text{cm}^{-1}$  e simétrica a 2838  $\text{cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-O (1640  $\text{cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-H (1458 e 1375  $\text{cm}^{-1}$ ), distensão da banda C-O-C (1099 e 1052  $\text{cm}^{-1}$ ) e distensão da banda C-O do anel (948 e 895  $\text{cm}^{-1}$ ) [38-40,43,44].



**Figura 13** - Espectro de absorção FTIR normalizado do adesivo Metilcelulose (MC) em filme Não Envelhecido e Envelhecido.

Em relação ao envelhecimento do adesivo, ambos os espectros apresentam as mesmas bandas características que o N.E., porém com diferentes intensidades. Houve uma diminuição geral da intensidade com as exceções: número de onda 1052  $\text{cm}^{-1}$  manteve-se igual e a banda 3400-3200  $\text{cm}^{-1}$  e número



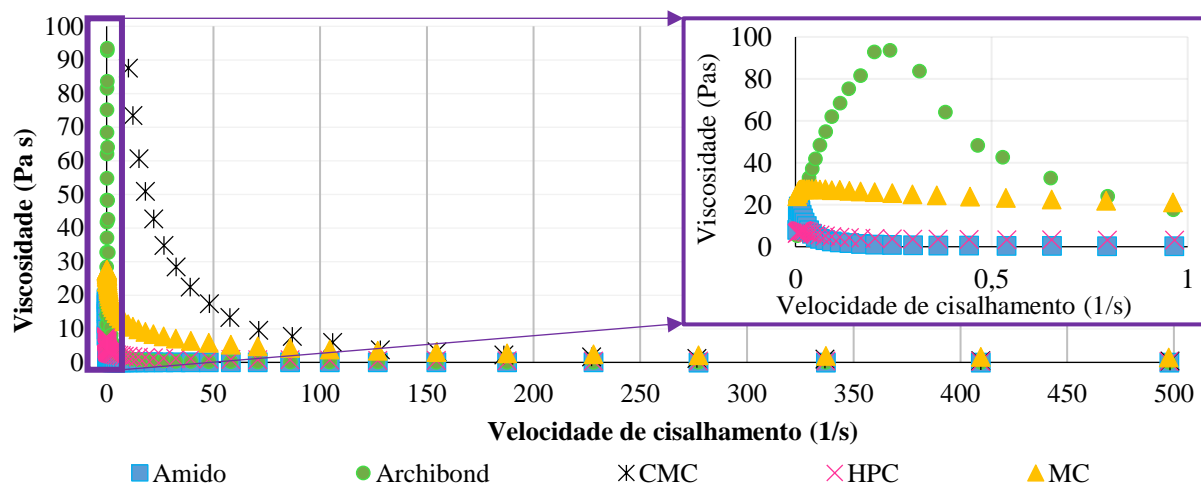
**Figura 14** - Estrutura idealizada da Metilcelulose (MC) [14].

de onda 1644  $\text{cm}^{-1}$  tiveram um ligeiro aumento. Em conclusão, os resultados obtidos por FTIR sugerem que os adesivos pasta de Amido, MC, CMC e HPC não apresentam alterações a nível molecular após o envelhecimento. O Archibond® apresenta uma ligeira alteração estrutural não sendo possível identificar por este método de análise a alteração ocorrida.



### 3.1.3. Viscosidade

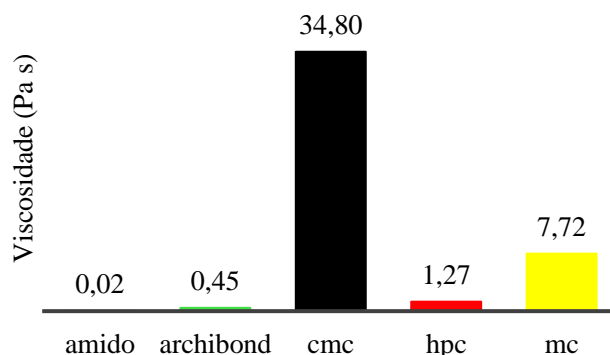
#### Reologia (viscosidade aparente)



**Figura 15** – Espectros obtidos por reologia dos adesivos a 4% m/v 25°C.

A fig. 15 mostra que as soluções (4% m/v) dos adesivos em estudo apresentam um comportamento característico de fluidos não newtonianos, ou seja, a viscosidade varia em função do tempo e da taxa de deformação aplicada. De acordo com a literatura [39] admite-se que a diminuição da viscosidade (aparente) com o aumento da velocidade de cisalhamento é devida a quebras na estrutura organizada do fluido ou a um aumento da orientação das cadeias poliméricas em direção do fluxo.

A viscosidade dos adesivos indicada pelos fabricantes não permite obter uma comparação entre os mesmos devido ao uso de métodos e condições de análise distintos (vd. Anexo B, tabela B.2). De modo a obter uma comparação da viscosidade dos adesivos a 4% m/V, foi selecionada uma única velocidade de cisalhamento para todos os adesivos – 26,66 1/s (fig. 16). Isto permite observar rapidamente que a CMC será a mais viscosa, seguida pela MC, a HPC, o Archibond® e por fim o Amido.



**Figura 16** – Viscosidade aparente dos adesivos a uma velocidade de cisalhamento de 26,66 1/s.

#### Viscosimetria capilar

Relativamente à viscosidade intrínseca  $[\eta]$  (ver tabela 2), os valores obtidos para os adesivos Não Envelhecidos levam a uma conclusão semelhante à que foi obtida por reologia: para as concentrações estudadas a CMC é a mais viscosa, depois a MC, a HPC, o Archibond® e por fim, o Amido.

Encontra-se em anexo (vd. Anexo C) informações sobre dissolução dos adesivos, tempos, cálculos e gráficos obtidos para cada adesivo.

**Tabela 2** – Valores de viscosidade intrínseca  $[\eta]$ , massa molecular média viscosimétrica ( $M_v$ ) e grau médio de polimerização em número ( $X_n$ ) obtidos para cada adesivo.

Adesivo		$M_0$ (g/mol)	Equação da reta	$R^2$	$t_{Sol.}$ Mãe (s)	$[\eta]$ (dL/g)	$M_v$	$X_n$	$\Delta X_n$ (%)
<b>Amido</b>	N. E.	180	$y = 8,643x + 0,517$	0,943	20,74	0,52	95 240	529	+23
	E.		$y = 6,880x + 0,606$	0,993	20,44	0,61	117 438	652	
<b>Archibond® Sem suporte</b>	N. E.	114	$y = -4,814x + 0,881$	0,563	18,62	0,88	1 461 036	12 816	-27
	E.		$y = -4,707x + 0,743$	0,488	18,46	0,74	1 058 515	9 285	
<b>CMC</b>	N. E.	540	$y = 91,053x + 12,40$	0,955	57,63	12,40	315 155	584	-84
	E.		$y = 15,656x + 2,247$	0,979	25,16	2,25	48 211	89	
<b>HPC</b>	N. E.	618	$y = 17,834x + 2,101$	0,986	25,77	2,10	244 693	396	-33
	E.		$y = 22,165x + 1,493$	0,999	25,44	1,49	162 961	264	
<b>MC</b>	N. E.	190	$y = 28,207x + 3,993$	0,998	30,43	3,99	435 828	2 294	-48
	E.		$y = 29,445x + 2,765$	0,971	28,01	2,77	223 441	1 176	

$M_0$  = Massa molecular da unidade repetitiva do polímero;  $t_{Sol. Mãe}$  (s) = Tempo médio em segundos da passagem da solução mãe pelo viscosímetro capilar (tempo inicial);  $[\eta]$  = Viscosidade intrínseca;  $M_v$  = Massa molecular média viscosimétrica;  $X_n$  = Grau médio de polimerização em número (grau de polimerização); Não E. = Não Envelhecido; E. = Envelhecido.

Todos os adesivos sofreram uma diminuição de viscosidade após o envelhecimento artificial com a exceção do Amido, que aumentou. O aumento da viscosidade intrínseca  $[\eta]$  e a semelhança dos tempos de escoamento da solução mãe Não Envelhecida (N.E) e Envelhecida (E.) (c. 20s), sugerem que o Amido E. aparenta não ter sofrido cisão de cadeias. Na solução de Amido E. observam-se partículas insolúveis, o que indica que parte do polímero reticulou. Esta conclusão é suportada pelo aumento observado da massa molecular ( $M_v$ ) e consequentemente, do grau de polimerização ( $X_n$ ) das cadeias que poderão ter formado ramificações. No limite, a extremidade da ramificação poder-se-á unir a outra cadeia formando uma “ponte covalente” entre elas, ou seja, uma reticulação, o que as torna insolúveis.

Para a total dissolução do *Archibond*® N.E. no solvente selecionado, foram necessárias 48h de agitação constante. O *Archibond*® E. após 48h não chegou a dissolver-se completamente o que indica que ocorreu reticulação do polímero depois do envelhecimento. Devido à presença de partículas não solubilizadas não é possível conhecer o valor exato da concentração da solução de polímero envelhecido, que será menor do que a que foi usada nos cálculos. Este fator reflete-se na baixa correlação observada nas equações de reta do *Archibond*® (N.E. e E.) (tabela 2). A diminuição de  $[\eta]$ , de  $M_v$  e  $X_n$  indicam que o polímero possa ter sofrido cisão de cadeia.

A CMC foi o adesivo com a maior diminuição de  $[\eta]$  após envelhecimento. O adesivo CMC N.E. era transparente e incolor, mas após o envelhecimento amareleceu e formou zonas mais espessas e rígidas que não dissolveram completamente no solvente. A diminuição da  $[\eta]$ ,  $M_v$  e  $X_n$  indicam que este polímero sofreu cisão de cadeias e a formação de partículas insolúveis mostra que também reticulou, tendo ocorrido os dois processos de degradação.

Tanto a HPC como a MC apresentaram uma ligeira diminuição de  $[\eta]$ ,  $M_v$  e  $X_n$  com o envelhecimento, indicando a ocorrência da cisão de cadeias nos dois éteres.

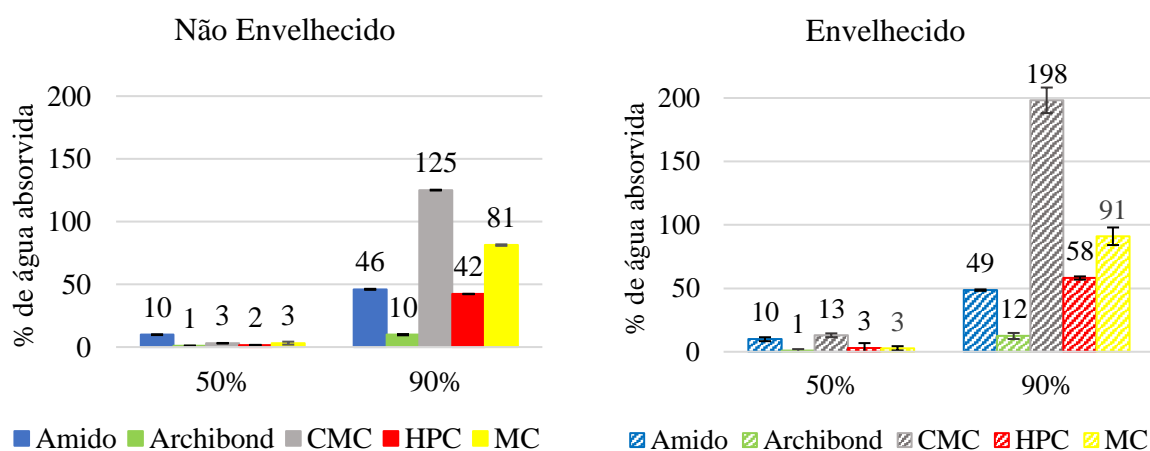
Em suma, de acordo com esta análise, concluiu-se que com o envelhecimento artificial realizado os adesivos *Archibond*<sup>®</sup> e CMC sofreram despolimerização e reticulação, a HPC e a MC sofreram só despolimerização e o Amido reticulou, embora o aumento de  $X_n$  indique que também ramificou. A despolimerização ocorrida com o envelhecimento seguiu a seguinte ordem decrescente: CMC > MC > HPC > *Archibond*<sup>®</sup> > Amido.

### 3.1.4. Higroscopia

O crescimento de microrganismos está dependente da água disponível no substrato que colonizam [9]. Assim, a capacidade de um adesivo ter mais ou menos capacidade de absorver água pode influenciar a sua biorecetividade e o crescimento dos microrganismos como os fungos. A 50% de HR podemos observar o comportamento dos adesivos a uma HR geralmente encontrada em museus e arquivos. A 90% HR observamos o comportamento dos adesivos numa situação extrema de humidade muito elevada.

De acordo com a fig. 17, a higroscopicidade dos adesivos N.E. a 90% HR segue a seguinte ordem decrescente: CMC > MC > Amido > HPC > *Archibond*<sup>®</sup>. A 50% HR a variação entre adesivos é mais baixa, embora o CMC se destaque por ter absorvido mais água que os restantes adesivos após envelhecimento.

Com o envelhecimento artificial todos os adesivos apresentam um crescimento da higroscopicidade, sendo esse crescimento mais reduzido no caso do Amido e *Archibond*<sup>®</sup>, em comparação com os éteres de celulose. Salienta-se a elevada higroscopicidade da CMC que atingiu valores acima de 100% do seu peso inicial. A ordem após envelhecimento é: CMC > MC > HPC > Amido > *Archibond*<sup>®</sup>, a 90% HR.

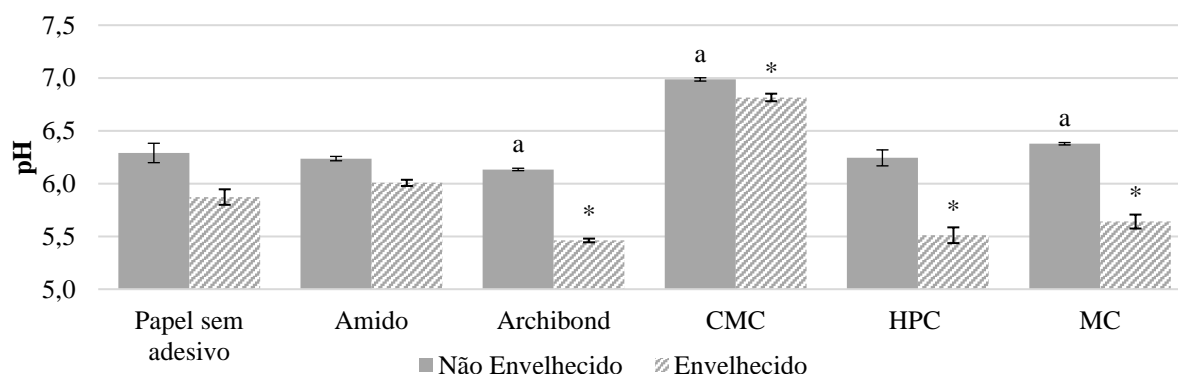


**Figura 17** – Água absorvida em % por adesivos Não Envelhecidos e Envelhecidos.

Tanto o Amido como os éteres de celulose são higroscópicos, ou seja, tem a tendência a absorver água do meio ambiente. Segundo a literatura [45], o Amido, quando estabilizado em condições atmosféricas normais, absorve entre 10 a 17% do seu peso em água, sendo que tanto o Amido N.E. como o E. estão dentro destes valores a uma HR de 50%. Quando a HR atinge os 90%, a quantidade de água absorvida pelo Amido é muito superior (c. 50%). No caso dos éteres, é habitual ocorrer uma absorção de entre 5 a 12% do seu peso em água [15], embora na fig. 17, os éteres N.E. e E. apresentem  $\approx 3\%$  de absorção de água a HR de 50%, exceto a CMC E. que é  $\approx 13\%$ . A absorção de água pelos éteres está dependente das ligações por pontes de hidrogénio que se estabelecem entre os átomos de oxigénio disponíveis na sua estrutura química e os átomos de hidrogénio da água, sendo que a 90% HR é possível observar que a HPC e a MC conseguem absorver mais que o Amido [15]. Segundo a literatura, a grande capacidade de absorção de água da CMC deve-se em grande parte ao seu carácter iónico [15], sendo que depois do envelhecimento consegue absorver duas vezes o seu peso inicial em água. O Archibond®, por ser um polímero acrílico, demonstrou ser muito pouco higroscópico já que a sua capacidade de absorção de água não ultrapassa os 12% num ambiente de 90% HR, tal como esperado. Os valores discriminados de absorção de água encontram-se no Anexo H.

### 3.1.5. Determinação de pH

Adesivos usados em conservação de papel devem ter um pH compatível com o substrato e não acidificar ao longo do tempo. Os valores de pH presentes na literatura consultada variam substancialmente entre estudos e referem-se maioritariamente a cada adesivo individualmente (sem suporte de papel) (vd. Anexo A). Desta forma, a determinação do pH foi realizada a adesivos já aplicados sobre papel de forma a avaliar a sua reação com o substrato, antes e depois de envelhecimento artificial. Os resultados de pH obtidos encontram-se na fig. 18 e em mais detalhe no Anexo I.



**Figura 18** – pH de adesivos aplicados sobre papel (papel sem adesivo é considerado controlo). Adesivos Não Envelhecidos estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) das amostras de controlo Não Envelhecidas estão marcadas com “a”. Adesivos Envelhecidos estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) das amostras de controlo Envelhecidas estão marcadas com “\*”).

Os adesivos Não Envelhecidos (N.E.) aplicados em papel apresentam um pH próximo do neutro (entre 6 e 7). A CMC é o adesivo com pH mais elevado (c. 7 pH) provavelmente devido à presença de iões  $\text{Na}^+$  [15]. Os adesivos Envelhecidos (E.) apresentam sempre valores de pH mais baixos do que os adesivos N.E. correspondentes e, à exceção do Amido, têm valores mais baixos que as amostras controlo. Isto indica que haverá uma acidificação a longo prazo das obras em que estes adesivos forem aplicados. O *Archibond*<sup>®</sup> E. apresenta o pH mais baixo ( $\text{pH} < 5,5$ ) seguido pela HPC e MC E., com pH inferior a 6, valores próximos dos encontrados na literatura [10,33].

### 3.1.6. Colorimetria

Todos os adesivos preparados em filme são transparentes após secagem e sem envelhecimento. No entanto, após o envelhecimento, alguns filmes como o *Archibond*<sup>®</sup> e a CMC, sofreram alterações visíveis macroscopicamente (vd. Anexo F). Através de colorimetria foi possível quantificar as alterações cromáticas ocorridas. As coordenadas colorimétricas ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) de amostras controlo (substrato de papel sem adesivo) foram usadas como referência para as medições de cor. A variação das coordenadas obtidas pelas amostras de adesivo sobre papel é apresentada na tabela 3. Valores das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  obtidos pelas medições de colorimetria encontram-se no Anexo J.

**Tabela 3** – Coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (média  $\pm$  desvio padrão) das amostras controlo e variação das coordenadas obtidas das amostras de adesivo sobre papel. Diferenças de cor ( $\Delta E$ ) discerníveis por um observador inexperiente estão sublinhadas.

			$L^*$	$a^*$	$b^*$
<i>Substrato de Papel (controlo)</i>		Não Envelhecido	$94,17 \pm 0,02$	$-0,45 \pm 0,03$	$1,32 \pm 0,07$
			$\Delta L^*$	$\Delta a^*$	$\Delta b^*$
<i>Substrato de papel</i>	Envelhecido	$0,07 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,02$	$-0,01 \pm 0,06$	$0,09 \pm 0,02$
<i>Amido</i>	Não Envelhecido	$-0,12 \pm 0,11$	$-0,09 \pm 0,03$	$-0,81 \pm 0,04$	$0,83 \pm 0,06$
	Envelhecido	$-0,95 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,05$	$0,95 \pm 0,04$
<i>Archibond</i> <sup>®</sup>	Não Envelhecido	$0,55 \pm 0,12$	$-0,17 \pm 0,03$	$-1,27 \pm 0,06$	$1,40 \pm 0,02$
	Envelhecido	$-1,00 \pm 0,09$	$0,09 \pm 0,07$	$1,77 \pm 0,07$	<b><u><math>2,03 \pm 0,04</math></u></b>
<i>CMC</i>	Não Envelhecido	$-0,78 \pm 0,11$	$-0,24 \pm 0,15$	$0,15 \pm 0,28$	$0,86 \pm 0,16$
	Envelhecido	$-6,70 \pm 0,89$	$1,46 \pm 0,24$	$9,17 \pm 0,94$	<b><u><math>11,45 \pm 1,28</math></u></b>
<i>HPC</i>	Não Envelhecido	$0,05 \pm 0,01$	$-0,27 \pm 0,03$	$-1,07 \pm 0,04$	$1,10 \pm 0,03$
	Envelhecido	$-1,11 \pm 0,19$	$-0,11 \pm 0,03$	$0,91 \pm 0,21$	$1,44 \pm 0,27$
<i>MC</i>	Não Envelhecido	$-0,31 \pm 0,41$	$-0,20 \pm 0,03$	$-1,24 \pm 0,04$	$1,34 \pm 0,15$
	Envelhecido	$-1,37 \pm 0,09$	$-0,15 \pm 0,05$	$0,58 \pm 0,11$	$1,49 \pm 0,12$

Em amostras Não Envelhecidas (N.E.), os adesivos Amido e CMC aplicados sobre papel não apresentam uma variação de cor visível ao observador ( $\Delta E < 1$ ) [28]. A variação de cor provocada pela aplicação de *Archibond*<sup>®</sup>, HPC e MC sobre papel é diminuta, sendo que apenas uma pessoa com experiência consegue notar a diferença ( $1 < \Delta E < 2$ ) [28].

Após o envelhecimento, as amostras com Amido não sofreram uma variação de cor visível ao observador ( $\Delta E < 1$ ), o que poderá estar relacionado com a pureza do Amido utilizado (*vd.* Anexo B). Smith et al. (1989) indica que o Amido não sofre uma variação de cor após envelhecimento se o adesivo for de boa qualidade [7]. A HPC e a MC sofreram uma muito ligeira alteração de cor com o envelhecimento, sendo apenas detetada a olho nu por uma pessoa com experiência ( $1 < \Delta E < 2$ ). O *Archibond*<sup>®</sup> apresentou valores de  $\Delta E$  entre 2 e 3,5, o que indica que a variação de cor após envelhecimento é perceptível por um observador sem experiência, sendo maioritariamente manifestada por amarelecimento ( $+\Delta b^*$ ). Estes resultados estão de acordo com um estudo anterior [7]. A CMC foi o adesivo que sofreu a maior alteração de cor após envelhecimento ( $\Delta E > 10$ ), sendo que quando  $\Delta E > 5$  indica que duas cores diferentes podem ser observadas [28]. Esta alteração resulta maioritariamente do escurecimento ( $-\Delta L^*$ ) e amarelecimento ( $+\Delta b^*$ ). Os éteres de celulose têm demonstrado um ligeiro amarelecimento após envelhecimento artificial [15]. No entanto, o intenso amarelecimento da CMC não pode ser comparado com estudos anteriores [7,11,15,46], uma vez que nenhum deles usou o sistema CIE  $L^*a^*b^*$  e porque diferentes marcas de CMC com diversos graus de substituição e viscosidade foram analisados. Strnadová (1994) conclui que a CMC tem a maior perda de brancura (% *whiteness*) em comparação com a HPC e a MC. Quando se pretende aplicar adesivos em património cultural estes devem ter uma cor estável ao longo do tempo, algo que não foi observado no caso da CMC. Como previamente mencionado, este resultado está dependente da formulação usada para este estudo, das suas características e da concentração utilizada, sendo que um conservador pode obter resultados mais favoráveis para papel, relativamente à alteração de cor, com outras formulações de CMC.

### 3.2. Avaliação do crescimento fúngico sobre adesivos

Após a determinação da área colonizada por fungos fez-se a avaliação do crescimento sobre as amostras, tendo em conta a escala definida no capítulo 2.6 desta dissertação. A área de colonização calculada em % por ImageJ encontra-se no Anexo K. Na tabela 4 encontram-se os resultados de biorecetividade dos adesivos aplicados em vidro, que permitiram uma avaliação dos adesivos sem influência do suporte de papel.

**Tabela 4** - Crescimento de três espécies de fungos (*A. niger*; *A. pullullans*; *P. pinophilum*) sobre cinco adesivos aplicados em **vidro** (Amido, A.S. (*Archibond*® sem suporte), CMC, HPC, MC), com e sem envelhecimento. O controlo corresponde ao substrato sem adesivo.

<b>Substrato de vidro</b>													
	dias	<b>Não Envelhecido</b>						<b>Envelhecido</b>					
		s/adesivo	Amido	<i>Archibond</i>	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	<i>Archibond</i>	CMC	HPC	MC
<b><i>A. niger</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	14	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	28	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	56	0	5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
<b><i>A. pullullans</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	28	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	56	0	4	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
<b><i>P. pinophilum</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	56	0	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0

O adesivo de Amido foi o mais biorecetivo às três espécies de fungos testadas e foi o único dos adesivos Não Envelhecidos a suportar crescimento fúngico. Quando envelhecida, a MC foi colonizada de forma residual e apenas pelo *A. niger*. A HPC Envelhecida só no final do período de incubação revelou algum crescimento fúngico, também pelo *A. niger*.

Na tabela 5 encontram-se os resultados de biorecetividade dos adesivos em suporte de papel, de forma a se testar uma situação real de aplicação dos adesivos em obras e documentos em papel. Tal como observado nas amostras aplicadas em vidro, o adesivo com maior colonização fúngica quando aplicado em papel foi o Amido. Em comparação com as amostras de controlo, este adesivo apresenta valores superiores de colonização para os três fungos testados. Estes resultados indicam que o Amido aumentará a biorecetividade a fungos do papel onde for aplicado. Sem envelheci-

mento, o *Archibond*<sup>®</sup> e a CMC revelaram algum crescimento fúngico no final do período de incubação, sendo que o *Archibond*<sup>®</sup> apenas pelo *A. pullullans* e a CMC pelas três espécies fúngicas. A MC e a HPC sem envelhecimento foram colonizadas por *A. niger* e ligeiramente por *A. pullullans* (<10%). Após envelhecimento o *A. pullullans* não colonizou nenhum adesivo.

**Tabela 5** – Crescimento de três espécies de fungos (*A. niger*; *A. pullullans*; *P. pinophilum*) sobre cinco adesivos aplicados em **papel** (Amido, A.S. (*Archibond*<sup>®</sup> sem suporte), CMC, HPC, MC), com e sem envelhecimento. O controlo corresponde ao substrato sem adesivo

<b>Substrato de papel</b>													
	dias	<b>Não Envelhecido</b>						<b>Envelhecido</b>					
		s/ adesivo	Amido	<i>Archibond</i>	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	<i>Archibond</i>	CMC	HPC	MC
<b><i>A. niger</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0
	14	0	1	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0
	28	2	3	0	0	1	2	1	3	0	0	1	0
	56	2	5	0	1	2	3	2*	3	0	0	2	0
<b><i>A. pullullans</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0*	0*	0*
	14	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	28	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	56	1	3	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0
<b><i>P. pinophilum</i></b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	14	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	28	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	56	0	2	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0

\* Duas amostras têm ≤ 10% de colonização, e a terceira ficou 100% colonizada possivelmente devido a contaminação.

O crescimento de *A. niger* sobre o Amido, durante os 56 dias de estudo, já era esperado, tendo em conta que é um fungo conhecido pelo seu rápido crescimento e pela sua afinidade por substratos orgânicos (como o papel e adesivos naturais). As espécies *A. pullullans* e *P. pinophilum* apresentam resultados muito semelhantes entre si: ao fim de 56 dias cresceram sobre o Amido e muito residualmente sobre os restantes adesivos e controlos. A seleção destas duas espécies teve em conta o seu uso recorrente em normas relacionados com o crescimento em polímeros sintéticos e ao facto de poderem serem encontrados a colonizar materiais orgânicos, como o papel. O facto destas espécies terem raramente sido capazes de crescer sobre os adesivos e sobre os substratos (papel e vidro) pode indicar que o tempo de incubação deveria ter sido maior. É de salientar ainda que as duas espécies não apresentaram um elevado desenvolvimento como em meios de cultura favoráveis, ou seja, *A. pullullans* não chegou a apresentar tons de cinzento/preto e *P. pinophilum* tons amarelos e verdes.



Em relação aos substratos usados, para a espécie *A. niger* o papel foi a melhor opção pois permitiu a observação dos esporos escuros deste fungo. No entanto, esta espécie é conhecida por colonizar o papel, o que poderá ter influenciado o crescimento sobre os adesivos. O vidro poderá ser a melhor opção para as espécies *A. pullullans* e *P. pinophilum* onde o crescimento sobre o Amido foi observado com mais clareza, sendo que sobre um fundo preto o micélio branco destes dois fungos era facilmente observado. O crescimento dos fungos sobre papel foi mais rápido e mais intenso do que no vidro o que poder-se-á dever à própria biorecetividade do papel, à sua higroscopicidade e textura/espessura que cria uma maior área específica disponível à colonização.

O Amido foi o adesivo que no geral permitiu o crescimento dos três fungos selecionados, independentemente de ser envelhecido ou não. Estes resultados estão de acordo com o sugerido pela literatura, em que o Amido, por ser um polímero natural e higroscópico, é reconhecido como sendo muito biorecetivo a microrganismos. Os fungos produzem enzimas com o intuito de degradar substâncias químicas necessárias para a sua nutrição, tais como Amido, lípidos, proteínas e outras substâncias complexas [26,47]. Relativamente ao Amido, os fungos conseguem degradar este polímero através de amílases [26,48,49].

Consequentemente, o Amido é o adesivo menos recomendado a ser utilizado em obras suscetíveis a colonização por organismos e, em casos que tenha sido usado, este deverá ser preservado em condições que não permitam o crescimento de fungos ( $HR < 65\%$  e  $T < 20 \pm 2^\circ C$ ) e sujeito a uma monitorização regular de modo a evitar possíveis colonizações.

O *Archibond*<sup>®</sup> foi por sua vez o adesivo com o menor crescimento observado. Ao fim de 56 dias apenas houve colonização por este adesivo por *A. pullullans* em papel N.E., e neste caso não ultrapassou os 2% de área colonizada. Tendo em conta que o controlo de papel s/adesivo ao fim de 56 dias foi colonizado e as amostras com *Archibond*<sup>®</sup> não, este adesivo demonstrou inclusive que permite a inibição de crescimento do *A. niger*. Isto pode dever-se em grande parte por ser um polímero sintético com baixa higroscopicidade, sendo que os fungos selecionados podem não ter a capacidade de obter nutrientes orgânicos necessários para o seu desenvolvimento a partir deste polímero.

Em relação aos éteres de celulose, verifica-se um aumento da biorecetividade no sentido  $CMC < HPC < MC$ . Embora todos os éteres tenham a estrutura da celulose como base, as diferenças na sua estrutura química podem influenciar a biorecetividade observada. No caso da CMC, é possível que a presença de iões  $Na^+$  e a sua característica iónica o tornem menos biorecetivo. A HPC aparenta ser ligeiramente menos biorecetiva do que a MC. É possível que esta diferença esteja relacionada com o solvente utilizado para a HPC, o etanol. A MC é também o segundo adesivo mais higroscópico (vd. capítulo 3.1.3) o que poderá permitir uma colonização de *A. niger* mais cedo que a HPC.

### 3.3. Comparação de todos os resultados obtidos

A tabela 6 foi desenvolvida com o intuito de permitir uma rápida observação dos resultados obtidos neste trabalho. Os resultados do estudo do comportamento químico e da biorecetividade dos cinco adesivos estudados (Amido; *Archibond*<sup>®</sup> sem Suporte (A.S.); Carboximetilcelulose (CMC); Hidroxipropilcelulose (HPC); e Metilcelulose (MC)), com e sem envelhecimento artificial, estão organizados por tipo de análise e em forma de índice por ordem decrescente.

**Tabela 6** – Os resultados obtidos pelas diferentes análises aos adesivos são apresentados nesta tabela em forma de índice decrescente para cada propriedade estudada, tanto para os adesivos N.E. como para os E.

<i>Análise/Propriedade</i>	<i>Não Envelhecido</i>	<i>Envelhecido</i>
<i>Viscosidade</i>	CMC >> MC > HPC > A.S. > Amido	MC > CMC > HPC > A.S. > Amido
<i>Grau de polimerização</i>	A.S. >> MC > CMC > Amido > HPC	A.S. >> MC > Amido > HPC > CMC
<i>Higroscopicidade</i>	CMC >> MC > Amido > HPC > A.S.	CMC >> MC > HPC > Amido > A.S.
<i>pH</i>	CMC > MC > Amido ≈ HPC > A.S.	CMC > Amido > MC > HPC > A.S.
<i>Variação de cor</i>	CMC > HPC > A.S. > MC ≈ Amido	CMC >> MC > HPC > A.S. > Amido
<i>Biorecetividade</i>	Amido >> MC > HPC > CMC > A.S.	Amido >> MC ≈ HPC > CMC = A.S.

Assim, é possível observar que não há uma correspondência direta entre a biorecetividade dos adesivos a fungos e as propriedades químicas analisadas. Nas diferentes análises efetuadas, a observada ordem decrescente é alterada após o envelhecimento artificial. A única exceção é a biorecetividade, onde a capacidade de colonização pelos fungos selecionados é semelhante entre as amostras com e sem envelhecimento.

### 4. Conclusões

As análises realizadas para caracterização e avaliação da estabilidade química dos adesivos com envelhecimento artificial, demonstraram que a CMC e o *Archibond*<sup>®</sup> apresentam deterioração química e estética (amarelecimento) após envelhecimento, indicado por FTIR, viscosimetria capilar e colorimetria, o que pode condicionar a escolha final do conservador a aplicar estes adesivos sobre papel. Em comparação, o Amido, MC e HPC mostraram-se quimicamente mais estáveis.

Em relação à biorecetividade, o trabalho desenvolvido permite concluir que, antes e após o envelhecimento, o Amido é o adesivo mais biorecetivo à colonização por fungos, seguido pelos éteres MC, HPC e CMC. O termofusível *Archibond*<sup>®</sup> demonstrou ser o menos biorecetivo. Ao fim de 56 dias, *A. niger* colonizou todos os adesivos com exceção do *Archibond*<sup>®</sup>. No mesmo período de tempo, com *A. pullullans* e *P. pinophilum* obtiveram-se áreas de colonização sobre o Amido entre os 30 e os 100%, sendo que nos restantes adesivos o crescimento destas espécies era nulo ou inferior a 2%. A biorecetividade destes cinco adesivos usados em conservação de papel está muito relacionada com a estrutura química dos polímeros que os constituem. Os resultados obtidos neste estudo

estão igualmente dependentes das formulações usadas, sendo possível obter variações das propriedades observadas relacionadas com a marca, solventes, concentrações usadas entre outros.

Não se observou uma relação direta entre a biorecetividade observada, e características que possam influenciar o crescimento fúngico, como a higroscopicidade ou o pH dos adesivos. Os adesivos menos biorecetivos, CMC e *Archibond*<sup>®</sup>, apresentaram ser o mais e o menos higroscópico, respetivamente. O mesmo se verifica com o pH, em que os valores mais elevados são observados no CMC e os mais reduzidos no *Archibond*<sup>®</sup>. Estes resultados demonstram que a biorecetividade de um material depende da conjugação de uma variedade de fatores, sendo um mecanismo complexo.

O Amido, sendo o adesivo mais biorecetivo aos fungos testados, mostrou por outro lado ser o mais estável quimicamente, com menor alteração de cor, despolimerização e variação de pH. Pelo contrário, os menos estáveis, no que diz respeito à cor (CMC e *Archibond*<sup>®</sup>), despolimerização (CMC) e pH (*Archibond*<sup>®</sup>) mostraram ter uma menor biorecetividade. O MC e o HPC apresentaram uma estabilidade química razoável, sendo que após envelhecimento tiveram uma baixa alteração de cor e despolimerização, mas em contrapartida, mostraram um aumento de higroscopicidade (MC) e variação de pH (MC e HPC).

A escolha final de um adesivo para conservação de papel terá sempre de ter em conta vários fatores, como o estado de conservação da obra e a sua intervenção futura, o tempo esperado de permanência do adesivo no objeto, as condições ambientais onde este será acondicionado, e dependerá igualmente da informação disponível sobre os adesivos existentes. Nesse sentido, este trabalho irá facultar uma ferramenta valiosa para os conservadores de documentos gráficos, para uma escolha mais consciente de um adesivo a utilizar numa intervenção de conservação e restauro e assim contribuir para o prolongar da existência da nossa memória documental.

## 5. Bibliografia

- [1] S. Zervos, I. Alexopoulou, Paper conservation methods: a literature review, *Cellulose*. 22 (2015) 2859–2897. doi:10.1007/s10570-015-0699-7.
- [2] A. Sandak, A. Jaszczur, J. Sandak, I. Modzelewska, Near infrared assessment of biodegradability and mechanical properties of paper made of cellulose sulfate bleached coniferous pulp with addition of cationic starch and resinous adhesive, *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 97 (2014) 31–39. doi:10.1016/j.ibiod.2014.09.019.
- [3] M.C. Area, H. Cheradame, Paper Aging and Degradation : Recent Findings and Research Methods, *BioResources*. 6 (2011) 5307–5337. bioresources.com.
- [4] S. Soleymani, The Effects of Plant Dyes, Watercolours and Acrylic Paints on the Physical, Chemical and Biological Stability of Japanese Tissue Paper Used in Paper Conservation, 2015.
- [5] V. Horie, *Materials for Conservation: Organic consolidants, adhesives and coatings*, second edi, Elsevier Ltd, 2010.
- [6] H.-J. Butt, M. Kappl, *Surface and Interfacial Forces*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2010. doi:10.1002/9783527629411.
- [7] C. Smith, S. Bertalan, A. Dwan, J. English, C. Nicholson, S.R. Albro, K. Schenck, L. Stiber, S. Wagner, Chap. 46 Adhesives, *B. Pap. Gr. Am. Inst. Conserv. Hist. Artist. Work*. (1989) 128. [http://cool.conservation-us.org/coolaic/sg/bpg/pcc/46\\_adhesives.pdf](http://cool.conservation-us.org/coolaic/sg/bpg/pcc/46_adhesives.pdf) (accessed October 12, 2016).
- [8] O. Guillitte, Bioreceptivity: a new concept for building ecology studies, *Sci. Total Environ*. 167 (1995) 215–220. doi:10.1016/0048-9697(95)04582-L.
- [9] F. Pinzari, G. Pasquariello, A. De Mico, Biodeterioration of paper: A SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions, *Macromol. Symp*. 238 (2006) 57–66. doi:10.1002/masy.200650609.
- [10] A.C. Gonçalves, *Estudo da Aplicação de Materiais Adesivos Termofusíveis na Conservação de Papel Vegetal*, Universidade Nova de Lisboa, 2010.
- [11] J. Strnadová, M. Ďurovič, The Cellulose Ethers in Paper Conservation, *Restaurator*. 15 (1994) 220–241. doi:10.1515/rest.1994.15.4.220.
- [12] J.D. Gu, Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: Recent research advances, *Int. Biodeterior. Biodegrad*. 52 (2003) 69–91. doi:10.1016/S0964-8305(02)00177-4.
- [13] J.L. Down, The evaluation of selected poly(vinyl acetate) and acrylic adhesives: a final research update, *Stud. Conserv*. 60 (2015) 33–54. doi:10.1179/2047058414Y.00000000129.
- [14] I. Alexopoulou, S. Zervos, Paper conservation methods: An international survey, *J. Cult. Herit*. 21 (2016) 922–930. doi:10.1016/j.culher.2016.04.001.
- [15] R. Feller, M. Wilt, *Evaluation of Cellulose Ethers for Conservation*, Second pri, The Getty Conservation Institute, 1990.
- [16] S. Sequeira, *Fungal biodeterioration of paper: Development of safer and accessible conservation treatments*, Universidade Nova de Lisboa, 2016.
- [17] ASTM G 21-96 (2002), Standard Practice for Determining resistance of synthetic polymeric materials to Fungi, ASTM Int. (2013). <http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?G21>.
- [18] ASTM D 4300-01 (2013), Standard Test Methods for Ability of Adhesive Films to Support or Resist the Growth of fungi, *Cultures*. 57 (2001) 1–10. doi:10.1520/D4300.
- [19] L.I.C. Carvalho, *Aspergillus e aspergilose – desafios no combate da doença*, Universidade Fernando Pessoa, 2013.
- [20] J.I. Pitt, A.D. Hocking, *Fungi and Food Spoilage*, Springer US, Boston, MA, 2009. doi:10.1007/978-0-387-92207-2.
- [21] S. Wang, C. Lin, Y. Liu, Z. Shen, J. Jeyaseelan, W. Qin, Characterization of a starch-hydrolyzing  $\alpha$ -amylase produced by *Aspergillus niger* WLB42 mutated by ethyl methanesulfonate treatment, *Int. J. Biochem. Mol. Biol*. 7 (2016) 1–10.

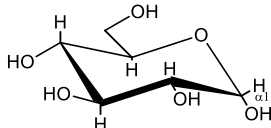
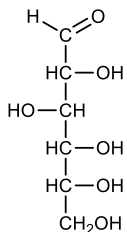
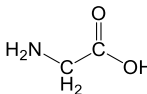
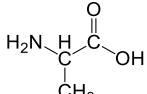
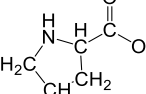
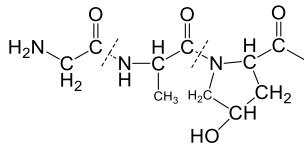
- [22] N. Raaman, N. Rajitha, A. Jayshree, R. Jegadeesh, Biodegradation of plastic by *Aspergillus* spp. isolated from polythene polluted sites around Chennai, *J. Acad. Ind. Res.* 1 (2012) 313–316.
- [23] A. Michaelsen, G. Piñar, M. Montanari, F. Pinzari, Biodeterioration and restoration of a 16th-century book using a combination of conventional and molecular techniques: A case study, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63 (2009) 161–168. doi:10.1016/j.ibiod.2008.08.007.
- [24] H. Bansa, Accelerated ageing of paper: Some ideas on its practical benefit, *Restaurator.* 23 (2002) 106–117. doi:10.1515/REST.2002.106.
- [25] ASTM D 280-01, Standard Test Methods for Hygroscopic Moisture (and Other Matter Volatile Under the, 81 (2001) 1–2. <http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?D280>.
- [26] Z. Abbasi, Water resistance, weight loss and enzymatic degradation of blends starch / polyvinyl alcohol containing SiO<sub>2</sub> nanoparticle, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 43 (2012) 264–268. doi:10.1016/j.jtice.2011.10.007.
- [27] TAPPI 509 om-11, Hydrogen ion concentration (pH) of paper extracts (cold extraction method), 2001. doi:10.1520/D1583-01.
- [28] W.S. Mokrzycki, M. Tatol, Color difference Delta E - A survey, *Mach. Graph. Vis.* 20 (2011) 383–411.
- [29] R. Johnston-Feller, Color science in the examination of museum objects: Nondestructive procedures, *Color Res. Appl.* 27 (2002) 456–457. doi:10.1002/col.10107.
- [30] N. Technologies, Inc., ND-1000 Spectrophotometer V3 . 3 User's Manual, in: n.d.
- [31] M.R. Derrick, D. Stulik, J.M. Landry, *Infrared spectroscopy in Conservation Science*, Los Angeles, 1999. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
- [32] F.J. Warren, M.J. Gidley, B.M. Flanagan, Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure - A joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study, *Carbohydr. Polym.* 139 (2016) 35–42. doi:10.1016/j.carbpol.2015.11.066.
- [33] J.L. Down, S. Guild, G. Hill, D. St-Jacques, K. Westbury, E.O. Loug, E. Kaminska, R.S. Williams, J. Iraci, S. Tse, Update on the CCI Adhesive Tape and Heat-Set Tissues Project, in: *Adhes. Consolidants Conserv. Research Appl. Symp.* 2011, 2011: pp. 1–29. doi:10.1520/D2244-05.
- [34] F.B.B. Carvalho, *Levantamento e Caracterização de Adesivos e Materiais de Preenchimento Utilizados na Preservação de Cerâmica Arqueológica*, Universidade Nova de Lisboa, 2016.
- [35] Koh May Hong, Preparation and characterization of carboxymethyl cellulose from sugarcane bagasse, *Universiti Tunku Abdul Rahman In*, 2013.
- [36] N. Haleem, M. Arshad, M. Shahid, M.A. Tahir, Synthesis of carboxymethyl cellulose from waste of cotton ginning industry, *Carbohydr. Polym.* 113 (2014) 249–255. doi:10.1016/j.carbpol.2014.07.023.
- [37] L.T. Cuba-Chiem, L. Huynh, J. Ralston, D.A. Beattie, In situ particle film ATR FTIR spectroscopy of carboxymethyl cellulose adsorption on talc: Binding mechanism, pH effects, and adsorption kinetics, *Langmuir.* 24 (2008) 8036–8044. doi:10.1021/la800490t.
- [38] M. Nadour, F. Boukraa, A. Ouradi, A. Benaboura, Effects of Methylcellulose on the Properties and Morphology of Polysulfone Membranes Prepared by Phase Inversion, *Mater. Res.* 20 (2017) 339–348. doi:10.1590/1980-5373-mr-2016-0544.
- [39] A. Benchabane, K. Bekkour, Rheological properties of carboxymethyl cellulose (CMC) solutions, *Colloid Polym. Sci.* 286 (2008) 1173–1180. doi:10.1007/s00396-008-1882-2.
- [40] S. Rimdusit, K. Somsaeng, P. Kewsuan, C. Jubsilp, S. Tiptipakorn, Comparison of Gamma Radiation Crosslinking and Chemical Crosslinking on Properties of Methylcellulose Hydrogel, *Eng. J.* 16 (2012) 15–28. doi:10.4186/ej.2012.16.4.15.
- [41] G. Şengül, S. Demirci, T. Caykara, Preparation, characterization, and surface energetics of hydroxypropyl cellulose/polyethylenimine blends, *J. Appl. Polym. Sci.* 114 (2009) 2751–2754. doi:10.1002/app.30611.
- [42] M. Mândru, S. Vlad, C. Ciobanu, L. Lebrun, M. Popa, Polyurethane-Hydroxypropyl

- Cellulose Membranes for Sustained Release of Nystatin, *Cellul. Chem. Technol.* 47 (2013) 5–12.
- [43] D. Maity, M.M.R. Mollick, D. Mondal, B. Bhowmick, M.K. Bain, K. Bankura, J. Sarkar, K. Acharya, D. Chattopadhyay, Synthesis of methylcellulose-silver nanocomposite and investigation of mechanical and antimicrobial properties, *Carbohydr. Polym.* 90 (2012) 1818–1825. doi:10.1016/j.carbpol.2012.07.082.
- [44] D.K. Buslov, N.I. Sushko, O.N. Tretinnikov, Study of thermal gelation of methylcellulose in water using FTIR-ATR spectroscopy, *J. Appl. Spectrosc.* 75 (2008) 514–518. doi:10.1007/s10812-008-9081-y.
- [45] H. Musa, A. Gambo, P.G. Bhatia, Studies on some physicochemical properties of native and modified starches from *digitaria iburua* and *Zea mays*, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 3 (2011) 28–31.
- [46] C.A. Baker, Ethylcellulose and sodium carboxymethylcellulose: an evaluation for use in paper conservation through accelerated aging, *Adhes. Consolidants Prepr. Contrib. to Paris Congr.* 2-8 Sept. 1984. (1984) 55–59. doi:10.1179/sic.1984.29.Supplement-1.55.
- [47] R.I. Nielsen, K. Oxenbøll, Enzymes from fungi: their technology and Uses, *Mycologist.* 12 (1998) 69–71. doi:10.1016/S0269-915X(98)80048-7.
- [48] A.A. Storey, J.M. Ramirez, D. Quiroz, D. V. Burley, D.J. Addison, R. Walter, A.J. Anderson, T.L. Hunt, J.S. Athens, L. Huynen, E.A. Matisoo-Smith, *Handbook of Adhesives*, Springer US, Boston, MA, 1990. doi:10.1007/978-1-4613-0671-9.
- [49] V.H. Sunitha, A. Ramesha, J. Savitha, C. Srinivas, Amylase production by endophytic fungi *Cylindrocephalum* sp. isolated from medicinal plant *Alpinia calcarata* (Haw.) Roscoe, *Brazilian J. Microbiol.* 43 (2012) 1213–1221. doi:10.1590/S1517-83822012000300049.
- [50] A. Cannon, Interactions between adhesives from natural sources and paper substrates, in: *Proc. Symp. 2011 - Adhes. Consolidants Conserv. Res. Appl.*, Ottawa, Canada, 2011: pp. 1–16. [http://www.cci-icc.gc.ca/symposium/2011/Paper 2 - Cannon - English.pdf](http://www.cci-icc.gc.ca/symposium/2011/Paper%20-%20Cannon%20-%20English.pdf).
- [51] A. Cannon, Water-resistant adhesives for paper, 1870–1920, *J. Inst. Conserv.* 38 (2015) 92–106. doi:10.1080/19455224.2014.997770.
- [52] S.M. Rodgers, S. Bertalan, A. Craddock, D. Clement, A. Dwan, K. Eirk, J. Goldman, D. Hamburg, D. Hartwell, F. Herrenschildt, E. Kaiser-Schulte, K.M. Keyes, J. Krill, K. Maynor, T.K. McClintock, S. Melching, M. Mickelson, J. Munn, C. Nicholson, S. Page, F. Prichett, A. Seibert, J. Sterrett, Y. Strumfels, D. Thomas, T.J. Vitale, M. Watters, F. Zieske, 23. Consolidation/ Fixing/ Facing, *B. Pap. Conserv. Cat.* (1988) 1–20.
- [53] M. Černič Letnar, S. Grkman, J. Vodopivec, The effect of surface coating on the stability of leafcast paper, *Restaurator.* 27 (2006) 46–65. doi:10.1515/REST.2006.46.
- [54] M. Bicchieri, M. Bortolani, E. Veca, Characterization of Low-molecular-weight Polyvinyl Alcohol for Restoration Purposes, *Restaurator.* 14 (1993) 11–29. doi:10.1515/rest.1993.14.1.11.
- [55] G. Van Steene, L. Masschelein-Kleiner, Modified Starch for Conservation Purposes, *Stud. Conserv.* 25 (1980) 64. doi:10.2307/1505861.
- [56] F. Michel, *Funori* and *JunFunori*: Two Related Consolidants With Surprising Properties, *Proc. Symp. 2011 – Adhes. Consolidants Conserv.* (2011) 15.
- [57] R. Takanoa, H. Iwane-Sakata, K. Hayashi, S. Haraa, S. Hiraseb, Concurrence of agaroid and carrageenan chains in funoran from the red seaweed *GZoiopetis furcata* Post. et Ruprecht (Cryptonemiales, Rhodophyta), *Carbohydr. Polym.* (1998) 81–87.
- [58] M.D.P. Ponce-Jimenez, F.A.L.-D. Toral, E.D. Fornue, Antifungal Protection and Sizing of Paper with Chitosan Salts and Cellulose Ethers. Part 1, Physical Effects, *J. Am. Inst. Conserv.* 41 (2002) 243. doi:10.2307/3179921.
- [59] O. Masson, M. Ritter, “Fräulein Huth” and the red seaweed: Consolidation of a collage by Kurt Schwitters with *JunFunori*®, *Pap. Conserv.* 28 (2004) 91–98. doi:10.1080/03094227.2004.9638644.

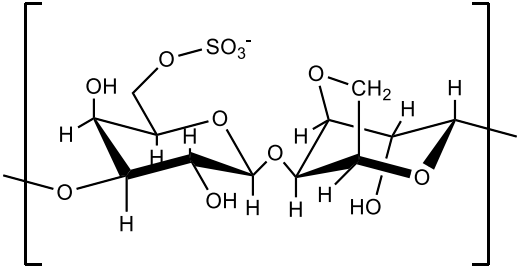
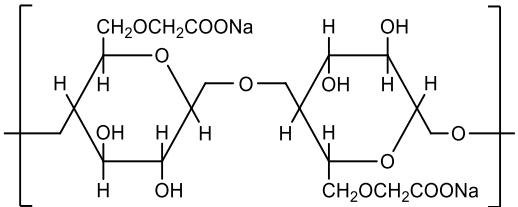
- [60] C.A. Baker, Sodium Carboxymethylcellulose (SCMC) Re-evaluated for Paper , Book , Papyrus , and Parchment Conservation, *B. Pap. Gr. Annu.* (2010) 1–15.
- [61] C.L. Blaxland, Adhesives in an historic library - a conservator's view, *Int. J. Adhes. Adhes.* 14 (1994) 123–129. doi:10.1016/0143-7496(94)90007-8.
- [62] R. Stevens, P. Garside, E. Russell, A Review of Current and Recent Practice in the Use of Adhesives by the Conservation Department at the British Library, in: *Adhes. Consolidants Conserv. Research Appl. Symp.* 2011, 2011.
- [63] M. Bicchieri, B. Mucci, Hydroxypropyl cellulose and polyvinyl alcohol on paper as fixatives for pigments and dyes, *Restaurator.* 17 (1996) 238–251.
- [64] N.C. for B. Information, Ethyl Acrylate, Database, PubChem Compd. (n.d.) CID=8821. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8821> (accessed October 18, 2016).
- [65] M.Č. Letnar, J. Vodopivec, Protection and Conservation of Materials on Paper, Evaluation of Permanence and Durability of the Laminated Material on Paper, *Restaurator.* 18 (1997) 177–190.
- [66] E. Princi, S. Vicini, E. Pedemonte, V. Arrighi, I. McEwen, New polymeric materials for paper and textile conservation. I. Synthesis and characterization of acrylic copolymers, *J. Appl. Polym. Sci.* 98 (2005) 1157–1164. doi:10.1002/app.22120.
- [67] N.C. for B. Information, Methyl Acrylate, PubChem Compd. Database. (n.d.) CID=7294. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7294> (accessed October 18, 2016).
- [68] C. Maitland, Microscopy for Paper Conservation: Comparing Various Adhesives and Examining Wheat Starch Paste Preparation Methods, in: *B. Pap. Gr. Annu.* 29, 2010: pp. 129–138.
- [69] J. Brandrup, E.H. Immergut, E.A. Grulke, eds., *Polymer handbook* (4th Edition), Wiley, New York, 1999.
- [70] D.J. Goodwin, D.R. Picout, S.B. Ross-Murphy, S.J. Holland, L.G. Martini, M.J. Lawrence, Ultrasonic degradation for molecular weight reduction of pharmaceutical cellulose ethers, *Carbohydr. Polym.* 83 (2011) 843–851. doi:10.1016/j.carbpol.2010.08.068.
- [71] ASTM, Standard Test Methods for Ability of Adhesive Films to Support or Resist the Growth of fungi, 2001.
- [72] Polymerdatabase, Poly(methyl acrylate), (2015). <http://polymerdatabase.com/polymers/polymethylacrylate.html> (accessed September 21, 2017).
- [73] Polymerdatabase, Poly(ethyl methacrylate), (2015). <http://polymerdatabase.com/polymers/polyethylmethacrylate.html> (accessed September 21, 2017).

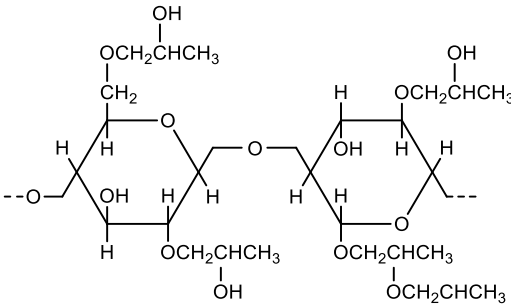
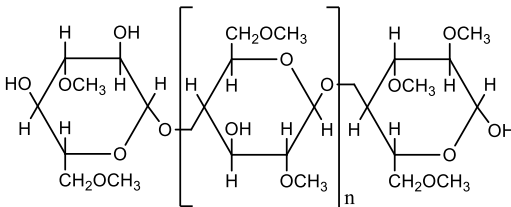
Anexo A – Adesivos usados em CR

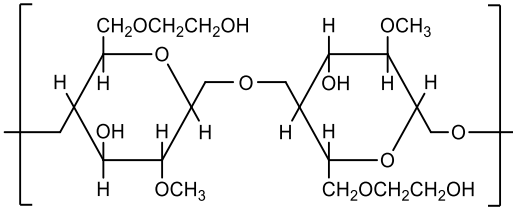
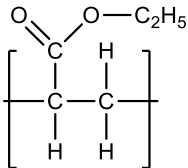
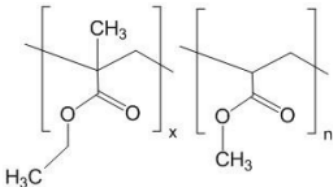
Tabela A.1 - Características físico-químicas e biológicas de adesivos utilizados em conservação e restauro de papel no séc. XXI

Adesivos	Descrição química	Solubilidade <sup>1</sup>	Reversibilidade	pH	Bioreceptividade	Cor	Data de utilização <sup>2</sup>
Naturais							
<p>Pasta de Amido [5]</p> <div><div><p><math>\alpha</math>-D-glucopirranose</p></div><div><math>\rightleftharpoons</math></div><div><p><math>\alpha</math>-D-glucose (cadeia linear)</p></div></div>	<p>Polissacarídeo, composto por unidades de glucose unidas por ligações <math>\alpha</math>-glicosídica. Composto por diferentes quantidades de amilose (cadeia linear) e amilopectina (cadeia ramificada) [50]</p>	<p>(S) 1-metil-2-pirrolidona [7] (S) Sulfóxido de dimetilo [51] (S) Água (80 - 150°C, dispersa formando uma pasta) [5,51]</p>	<p>- Difícil de remover com o passar do tempo. Inicialmente pode ser reversível com água - Enzimas [52]</p>	<p>4 - 7,5 [7] 5,3 – 7,5 [53]</p>	<p>Insetos, roedores e fungos [7,54,55]</p>	<p>Amarelece com envelhecimento [7]</p>	<p>Usado como adesivo desde o séc. I a.C. [7]</p>
<p>Gelatina [5]</p> <p>Colagénio:</p> <div><div><p>Glicina</p></div><div><p>Alanina</p></div><div><p>Hidroxiprolina</p></div><div></div></div>	<p>Proteína fibrosa, resultante da hidrólise do colagénio em péptidos menores. Normalmente o colagénio contém sequências de glicina-alanina-hidroxiprolina [5,50]</p>	<p>(S) Ácido acético (requer calor) [5,7] (S) Glicerol [5] (S) Água (<math>\geq 40^\circ\text{C}</math>) [51] (S) 2,2,2-trifluoroetanol [51] (S) sulfóxido de dimetilo (requer calor) [5,51] (S) Formamida [51] (S) Etilenoglicol (requer calor) [5]  (D) Etanol [7] (D) Isopropanol [7]  (I) Solventes orgânicos [51]</p>	<p>- Água (morna e quente) - Água alcalina - Enzimas proteolíticas [7]</p>	<p>Varia consoante o tipo/preparação  Quando é adicionado alúmen em pequena quantidade, o pH da gelatina tende a ficar neutro [7]</p>	<p>Insetos, fungos [52]</p>	<p>Ligeiro escurecimento com envelhecimento [7]  Em soluções muito diluídas a mudança é quase impercetível [7]</p>	<p>Adesivos de origem animal são usados desde a antiguidade [5,7]</p>



Adesivos	Descrição química	Solubilidade <sup>1</sup>	Reversibilidade	pH	Bioreceptividade	Cor	Data de utilização <sup>2</sup>
<b>Naturais</b>							
<b>Funori</b>   <p style="text-align: center;">Agarobiose 6-sulfato</p>	Polissacarídeo extraído de algas vermelhas, maioritariamente <i>Gloiopeltis furcata</i> . O estrato da mucilagem das algas chama-se <i>funoran</i> . [5,7,56]. Este é constituído por um componente principal, a cadeia de <i>agaroid</i> e outros três componentes menores [5,57]	Solúvel em água quente (45 - 80°C) [58]	Sem informação	6.6 - 7.5 [56]	Fungos [5,7]	Cor varia consoante o fabricante: melhor qualidade é um pó branco, menor qualidade é mais amarelado [56,59]	Desde 1673 que é usado no Japão como adesivo [7]
Polissacarídeo em maior quantidade (≈85%) no <i>funoran</i> [5]							
<b>Sintéticos</b>							
<b>Éteres de celulose</b>							
<b>Carboximetilcelulose de sódio (CMC) [15]</b>  	Criado a partir da reação de monocloroacetato de sódio (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ClO <sub>2</sub> Na) com celulose alcalina [15]	(S) Água [5,7]  (D) solventes orgânicos [7]	- Insolúvel em contato com catiões como o Fe <sup>3+</sup> ou Cu <sup>2+</sup> [7]	4,6 – 7.5 [7]  5 – 5,25 [11]  ≈ 7,5 [60]	Bactérias, fungos [7,11,61]  Sujeito a ataque enzimático, mais resistente a bactérias devido à concentração de sódio alta [15]  Elevada resistência a ataque biológico [46,60]	Após envelhecimento artificial amarelece mas é praticamente impercetível [7,15]	Introduzido comercialmente: 1930s  Conservação: 1966 [5]
<b>Nomes comerciais:</b> Tylose C300 [1]; CMC, Cellofas B 3500 [52]							

Adesivos	Descrição química	Solubilidade <sup>1</sup>	Reversibilidade	pH	Bioreceptividade	Cor	Data de utilização <sup>2</sup>
<b>Sintéticos</b>							
<b>Éteres de celulose</b>							
<b>Hidroxipropilcelulose (HPC) [7]</b>  	Criado a partir da reação de celulose alcalina com óxido de propileno a temperaturas e pressão elevadas [7]	(S) Água ( $\leq 40^{\circ}\text{C}$ ) (S) solventes orgânicos [7]	Sem informação	5,0 - 8,5 [7] 4,35 – 4,4 [11] 6,12 – 6,8 [63]	Bactérias [7] Fungos [7,11]	Após envelhecimento artificial amarelece mas é praticamente imperceptível, exceto quando tem um peso molecular elevado (Klucel M e H) [15]	Introduzido comercialmente:1920s  Conservação: 1976 [5]
<b>Nomes comerciais:</b> Klucel G, M [1]; Cellugel [62]							
<b>Metilcelulose (MC) [15]</b>  	Criado a da partir da reação de clorometano com celulose alcalina [15]	(S) Água ( $\leq 38^{\circ}\text{C}$ ) [52] (S) Solventes orgânicos [7,15,46]	- Insolúvel em água (após envelhecimento) [5]	3 – 11 [15] 4,3 – 4,5 [11] 7,5 – 7,9 [53] $\approx 7,5$ [60] 5 – 5,7 [15]	Fungos [11] Elevada resistência a ataque biológico [15,46]	Após envelhecimento artificial amarelece mas é praticamente imperceptível [15]	Introduzido comercialmente:1920s  Conservação: 1924 [5]
<b>Nomes comerciais:</b> Glutofix 100, glutin, MC 400, MC 40[1,14]; Methocel A4C [62]; Culminal [15]							

Adesivos	Descrição química	Solubilidade	Reversibilidade	pH	Bioreceptividade	Cor	Data de utilização
<b>Etilhidroximetilcelulose (MHEC) [7]</b>  	Metilcelulose que contém uma pequena substituição de hidroxietil [7]	(S) Água ( $\leq 38^\circ\text{C}$ )  (D) álcool  (I) Água ( $\geq 70^\circ\text{C}$ ) [7]	Sem informação	3,4 – 8,73 [15]  4,5 – 5,2 [11]	Fungos [11]	Após envelhecimento artificial amarelece ligeiramente [7]	Introduzido comercialmente: 1920s  Conservação: 1977 [5]
<b>Acrílicos</b>							
<b>Poli (acrilato de etilo) PEA [5]</b>  	<i>Tissue</i> revestido por um dos lados com um adesivo polimérico. No Filmoplast R <sup>®</sup> o adesivo foi identificado como PEA por [10]	(S) Sulfóxido de dimetilo (ligeiramente solúvel)  (S) clorofórmio  (M) etanol e éter etílico [64]	- Álcool  - Acetona  - Calor [10]	7,2 – 7,5 [10]  7,5 – 8,5 [65]	Não é suscetível a ataque fúngico [66]	Após envelhecimento artificial amarelece mas é impercetível a olho nu [10]	Introduzido comercialmente: 1931 [5]  Conservação: 1997 [65]
<b>Copolímero (metacrilato de etilo/ acrilato de metilo) (P(MA/EMA) [34]</b>  	<i>Archibond Heat set Tissue</i> é um termofusível revestido por papel e do lado oposto por um adesivo polimérico.  O <i>Unsupported Archibond</i> foi identificado como PMA/PEMA por [13]	(M) álcool  (M) éter etílico [67]	- Acetona[5,10]  - 1-1-1 Tricloroetano e outros solventes em base de álcool (fabricante Arte & Memória)	5,4 - 6,3 [10]	Não é suscetível a ataque fúngico [66]	Após envelhecimento artificial amarelece mas é impercetível a olho nu [10]	Introduzido comercialmente: 1933s  Conservação: 1940 [5]
<b>Nome comercial:</b> <i>Archibond</i> <sup>®</sup> Heat set tissue [10] ou <i>Unsupported Archibond</i> <sup>®</sup> [13,33]							

<sup>1</sup> (S): solúvel, (D) diluível, (M) miscível, (I) insolúvel.

<sup>2</sup> Estas datas podem não corresponder ao momento em que os adesivos começaram a ser utilizados em conservação e restauro mas apenas quando a sua aplicação foi mencionada pela primeira vez em publicações.

## **Anexo B – Preparação e aplicação dos adesivos**

### **Preparação dos adesivos em solução:**

#### **Amido**

A pasta de Amido foi preparada inicialmente na concentração 10% (m/v) como indicado na literatura [68]. Pesou-se o Amido, com uma espátula de plástico/madeira (Sigma - Aldrich, Starch from wheat, unmodified) ao que foi adicionado água destilada. Misturou-se o Amido com uma vareta e deixou-se a repousar durante 30min. Após repouso, o Amido foi novamente mexido e colocado em banho-maria sobre uma placa de aquecimento. Passados 20-30 min e sempre sob agitação constante, quando a solução obteve uma aparência translúcida e cremosa, foi deixada a arrefecer. Posteriormente foi passada por um pano de linho 4 vezes até ter uma consistência pastosa.

#### **Archibond® sem suporte (A.S.)**

O adesivo já se encontra pronto para uso sendo apenas necessário remover a película protetora.

#### **Carboximetilcelulose com sódio (CMC)**

Aqueceu-se 50ml de água destilada ao qual foi adicionado aos poucos e sobre agitação, 2g de CMC (Ashland, Cellulose Gum Blanose®). Deixar a mistura a dissolver durante aproximadamente 24 horas ou mais.

#### **Hidroxipropilcelulose (HPC)**

Adicionou-se 2g de HPC (Arte & Memória, Klucel G) a 50 ml de etanol. Mexer com uma vareta até dissolver.

#### **Metilcelulose (MC)**

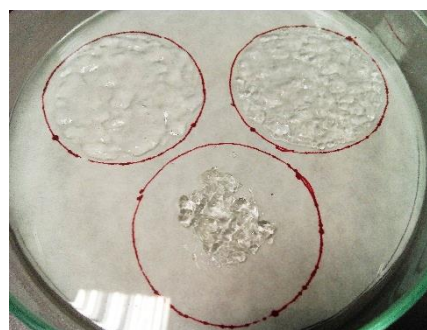
Aqueceu-se 25ml de água destilada ao qual foi adicionado aos poucos e sobre agitação, 2g de MC (Ashland, Culminal® Metilcelulose MC 2000 S). No fim adiciona-se mais 25 ml de água fria para obter uma solução de 4% (m/v).

### **Preparação dos adesivos em filme:**

Os adesivos foram preparados em solução (excepto Archibond®). Com uma espátula, cada solução foi aplicada sobre uma película Melinex® siliconada e deixados a secar de modo a formar um filme.

### Aplicação dos adesivos sobre papel e vidro

Cada adesivo foi aplicado na concentração em que é habitualmente utilizado em conservação e restauro de papel [1,7,10,68]. De forma a se poderem comparar os resultados entre adesivos, foi importante garantir que, embora aplicados a concentrações distintas, o peso seco dos adesivos fosse o mesmo. Desta forma, foram utilizadas as concentrações e quantidades indicadas na tabela B.1. Também para garantir uma quantidade idêntica de adesivo e diminuir a contaminação foi criado o seguinte processo de aplicação para os adesivos líquidos: cada adesivo foi aplicado com uma espátula, sobre uma película de poliéster (Melinex®) siliconada; película colocou-se o papel por cima da película, fazendo pressão, e deixou-se secar; após secagem removeu-se a película ficando um filme de adesivo sobre o papel. No caso do CMC, por ser muito viscoso a 4% (m/v), foi necessário aplicar inicialmente metade do peso pretendido, colocar sobre o filtro/papel, deixar secar e aplicar o restante sobre o filme formado. No fim removeu-se a película.



**Figura B.1** – Aplicação de CMC sobre vidro.

Nas placas Petri de vidro (25x150Ømm, Normax), os adesivos foram aplicados com recurso a uma espátula, em círculos com 55mm diâmetro, o mais homogeneamente possível (fig. B.1), e deixados a secar na câmara de fluxo laminar, para evitar a deposição de poeiras.

Para aplicação do adesivo *Archibond*®, após remoção da sua película protetora, este foi colocado sobre o papel ou vidro e ativado com uma espátula quente a  $80 \pm 5^\circ\text{C}$  (Willards of Chichester, Controller type 'E', 36 volts).

**Tabela B.1-** Quantidade de adesivo aplicado em papel, filtro e vidro.

	<i>Archibond</i> ®	<i>Pasta de Amido (10%)</i>	<i>MC, CMC e HPC (4%)</i>
75mm Ø (papel/filtro)	0,068g	0,36g	1,7g
55mm Ø (vidro)	0,036g	0,68g	0,9g

**Viscosidade dos adesivos segundo os fabricantes**

**Tabela B.2** – Viscosidade dos adesivos indicada pelos fabricantes.

<i>Adesivo</i>	<i>Marca</i>	<i>Viscosidade</i>	<i>Método /condições de análise</i>
<i>Amido</i>	Starch from wheat Unmodified, Sigma Aldrich	Não indicado	-
<i>Archibond</i>	Archibond sem suporte, Arte & Memória	Não indicado	-
<i>CMC</i>	Ashland, Cellulose Gum Blan- ose®, Tipo GS 7H4F, Arte & Memória	300-700 mPas	Solução a 1%, 25°C Brookfield LTV
<i>HPC</i>	Klucel G, Arte & Memória	150-400 (mPas)	Solução a 2%
<i>MC</i>	Ashland, Culminal® MC 2000, Methylcellulose Ether, Arte & Memória	2100 – 2900 mPas	Solução a 2%, 20°C

## Anexo C – Viscosimetria Capilar

### Metodologia

O peso molecular dos adesivos foi determinado utilizando um viscosímetro capilar de Übbelohde 1C. Para cada adesivo foi selecionado um solvente e respectivas constantes de Mark-Houwink-Sakurada (M.H.S.) (tabela C.1). No caso da pasta Amido e do Archibond®, por não haver constantes específicas para estes materiais, utilizou-se valores de compostos semelhantes, ou seja, a amilose e Poli (metacrilato de etilo) (P(EMA)) respetivamente.

**Tabela C.1** - Seleção das constantes de M.H.S. para cada adesivo.

Adesivo	Solvente	T (C°) ± 1°C	Constantes M.H.S.		Método <sup>(1)</sup>	Ref.
			k	a		
Amido (amilose)	Aq. KOH (0,5M)	25	0,000085	0,76	LS <sup>(2)</sup>	[69]
Archibond (P(EMA))	Acetato de etilo/etanol (2/9, v/v)	35	0,000476	0,53	LS	[69]
CMC	Aq. NaCl (0,1M)	25	0,000123	0,91	SD <sup>(3)</sup>	[69]
HPC	Água Millipore	25	0,0000625	0,84	-	[70]
MC	Água Millipore	25	0,00316	0,55	LS	[69]

<sup>(1)</sup> Método de determinação dos pesos moleculares absolutos das amostras de polímero utilizadas para a determinação das constantes de M.H.S.; <sup>(2)</sup>Light-Scattering (dispersão de luz); <sup>(3)</sup> Sedimentation and diffusion (sedimentação e difusão)

Cada adesivo (Não Envelhecido em pó; Envelhecido em filme) foi diluído no respetivo solvente numa concentração de 0,001g/mol (solução mãe), sob agitação constante durante 12h no mínimo (tabela C.2). Durante a experiência, foi-se adicionado 1ml de solvente ao volume inicial da solução mãe colocada no reservatório do viscosímetro Übbelohde, perfazendo um total de 5 diluições.

**Tabela C.2** - Observações sobre a dissolução dos adesivos nos respetivos solventes para a medição da viscosidade.

Adesivo	Observações:
Amido	Não Envelhecido
	Em 12 horas não ficou completamente dissolvido em KOH Aq. Após 12 horas com aquecimento a 50°C dissolveu bem
Archibond®	Envelhecido
	Após 12 horas com aquecimento a 50°C, dissolveu bem em KOH Aq.
Archibond®	Não Envelhecido
	Em 12 horas não ficou completamente dissolvido no solvente. Após 48h dissolveu bem
Archibond®	Envelhecido
	Em 12 horas não ficou completamente dissolvido. Pequenas partículas brancas em suspensão (<1mm), após 48h
CMC	Não Envelhecido
	Em 12 horas ficou bem dissolvido em NaCl Aq.
CMC	Envelhecido
	Em 12 horas não ficou completamente dissolvido. Ao fim de 48 horas + 30 min sobre aquecimento a 50°C não dissolveu. Continha pequenas partículas em suspensão (<1mm) que correspondem às zonas mais espessas e amarelas do filme de CMC
HPC	Não Envelhecido
	Em menos de 12 horas ficou bem dissolvido em água millipore®
HPC	Envelhecido
	Em menos de 12 horas ficou bem dissolvido em água millipore®
MC	Não Envelhecido
	Em menos de 12 horas ficou bem dissolvido em água millipore®
MC	Envelhecido
	Em menos de 12 horas ficou bem dissolvido em água millipore®

Foi medido o tempo médio de passagem do solvente, da solução mãe e respetivas diluições entre os dois traços de referência do reservatório, obtendo-se no mínimo 6 medições com um intervalo máximo de 0,1s e calculou-se o valor médio. A viscosidade intrínseca  $[\eta]$  foi calculada graficamente usando os tempos obtidos e a equação de Huggins em que  $\eta_{sp}/c = [\eta] + k' [\eta]^2 c$ , e  $\eta_{sp} = (\bar{t} -$

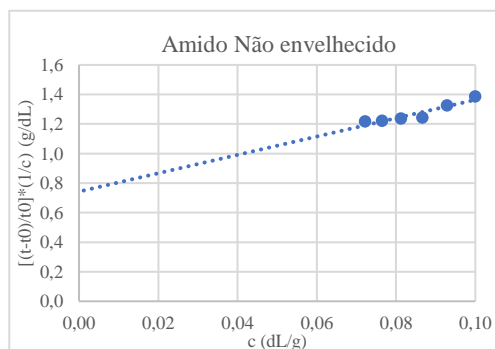
$\bar{t}_0)/\bar{t}_0$ , sendo que  $\bar{t}_0$  o tempo médio de escoamento do solvente puro e  $\bar{t}$  o tempo médio de escoamento da solução.

A representação gráfica de valores  $\eta_{sp}/c$  em função de  $c$  (relativos a soluções de polímero com diferentes concentrações) é linear e que a extrapolação para  $c=0$  é o valor de  $[\eta]$ , ou seja, a ordenada na origem da equação da reta obtida por regressão linear dos valores experimentais obtidos. É assim possível calcular a massa molecular média viscosimétrica ( $M_v$ ) usando a equação empírica de M.H.S.:  $[\eta] = kM_v^a$ . Por fim calculou-se o peso molecular da unidade repetitiva do polímero ( $M_o$ ) e o grau médio de polimerização em número ( $X_n$ ) sendo que  $X_n=M_v/M_o$

As tabelas que se seguem consistem na associação da concentração do adesivo e  $\bar{t}$  do escoamento do polímero, o que permitiu o cálculo da viscosidade específica e a equação de Huggins, necessárias para o cálculo da  $M_v$ . Os gráficos demonstram a reta traçada a partir da equação de Huggins para diferentes concentrações de adesivo. A equação da reta permite determinar a equação de M.H.S., sendo  $[\eta]$  definido na ordenada da origem.

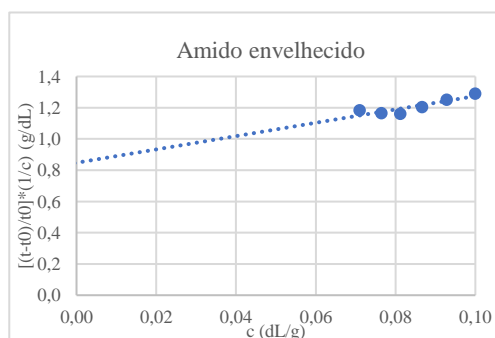
#### Amido Não Envelhecido

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0] * (1/c)$
18,22	20,74	0,138518	0,10000	10,00000	1,38518
	20,46	0,122964	0,09286	10,76890	1,32419
	20,18	0,107594	0,08667	11,53802	1,24142
	20,04	0,100311	0,08125	12,30769	1,23460
	19,92	0,093285	0,07647	13,07702	1,21988
	19,82	0,087832	0,07222	13,84658	1,21617



#### Amido Envelhecido

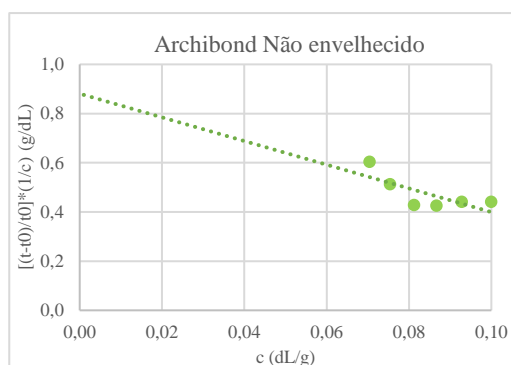
$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0] * (1/c)$
18,11	20,44	0,12900	0,10000	10,00000	1,28998
	20,21	0,11611	0,09285	10,77006	1,25053
	20,00	0,10433	0,08667	11,53802	1,20377
	19,82	0,09439	0,08125	12,30769	1,16172
	19,72	0,08905	0,07647	13,07702	1,16453
	19,63	0,08408	0,07101	14,08252	1,18408





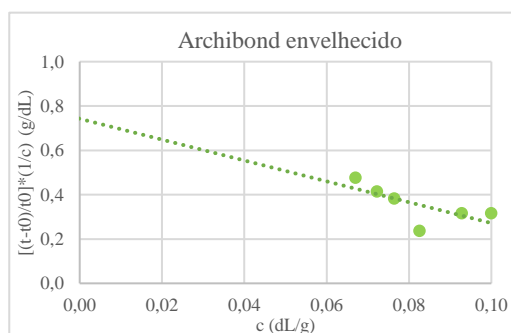
### Archibond® sem suporte Não Envelhecido

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
17,83	18,62	0,044027	0,10000	10,00000	0,44027
	18,56	0,040849	0,09286	10,76890	0,43990
	18,49	0,036792	0,08667	11,53802	0,42451
	18,45	0,03470	0,08125	12,30769	0,42711
	18,52	0,038581	0,07545	13,25381	0,51134
	18,59	0,042452	0,07042	14,20051	0,60284



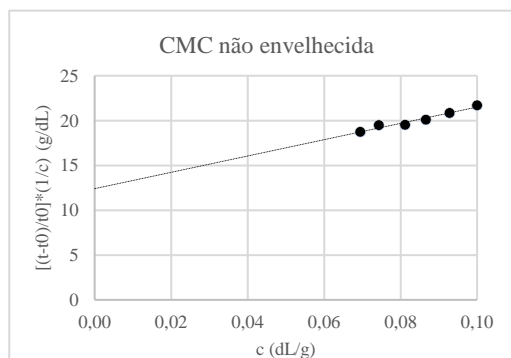
### Archibond® sem suporte Envelhecido

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$C$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
17,89	18,46	0,031667	0,10000	10,00000	0,31667
	18,42	0,029357	0,09286	10,76890	0,31614
	18,24	0,019576	0,08254	12,11534	0,23717
	18,41	0,029246	0,07647	13,07702	0,38246
	18,43	0,029916	0,07222	13,84658	0,41423
	18,46	0,031979	0,06706	14,91202	0,47687



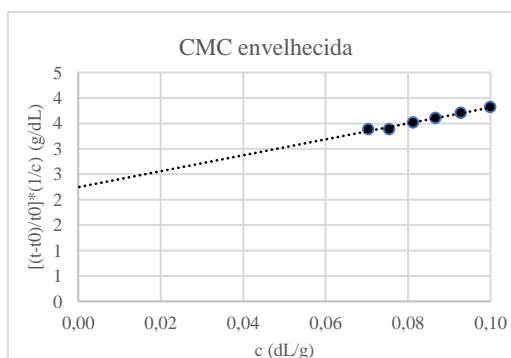
### CMC Não Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
18,18	57,63	2,169967	0,10000	10,00000	21,69967
	53,35	1,93436	0,09286	10,76890	20,83093
	49,84	1,741291	0,08667	11,53802	20,09104
	47,03	1,586909	0,08125	12,30769	19,53118
	44,54	1,450128	0,07438	13,44447	19,49621
	41,84	1,301247	0,06949	14,39056	18,72567



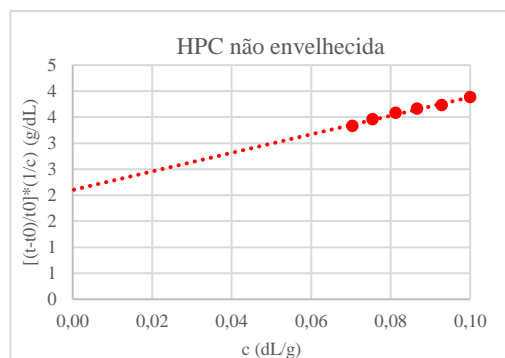
### CMC Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
18,21	25,16	0,38173	0,10000	10,00000	3,81728
	24,47	0,34401	0,09286	10,76890	3,70464
	23,89	0,31240	0,08667	11,53802	3,60449
	23,41	0,28567	0,08125	12,30769	3,51595
	22,86	0,25540	0,07545	13,25381	3,38504
	22,55	0,23841	0,07042	14,20051	3,38551



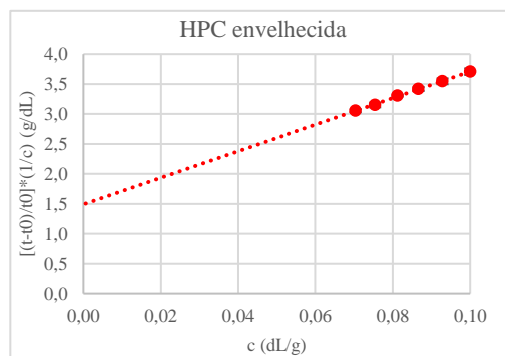
### HPC Não Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
18,56	25,77	0,38829	0,10000	10,00000	3,88290
	24,99	0,34644	0,09286	10,76890	3,73082
	24,45	0,31717	0,08667	11,53802	3,65951
	23,96	0,29095	0,08125	12,30769	3,58090
	23,40	0,26078	0,07545	13,25381	3,45627
	22,91	0,23438	0,07042	14,20051	3,32824



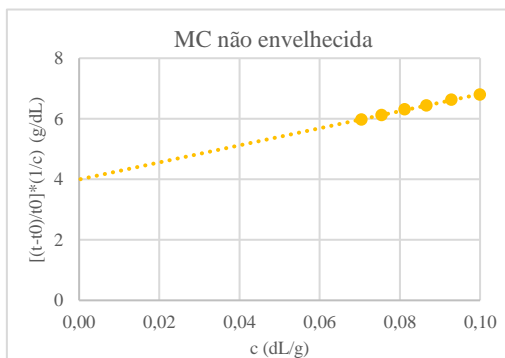
### HPC Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
18,56	25,44	0,37073	0,10000	10,00000	3,70735
	24,67	0,32931	0,09286	10,76890	3,54631
	24,06	0,29634	0,08667	11,53802	3,41913
	23,55	0,26877	0,08125	12,30769	3,30791
	22,97	0,23774	0,07545	13,25381	3,15099
	22,55	0,21516	0,07042	14,20051	3,05535



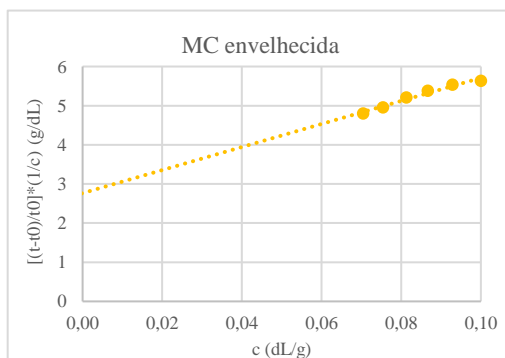
### MC Não Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
18,12	30,43	0,679669	0,10000	10,00000	6,79668
	29,27	0,615455	0,09286	10,76890	6,62777
	28,22	0,557682	0,08667	11,53802	6,43454
	27,40	0,512236	0,08125	12,30769	6,30443
	26,48	0,461822	0,07545	13,25381	6,12089
	25,73	0,420055	0,07042	14,20051	5,96500



### MC Envelhecida

$\bar{t}_0$ (seg)	$\bar{t}$ (seg)	$(t-t_0)/t_0$ (seg)	$c$ (g/dL)	$1/c$	$[(t-t_0)/t_0]^*$ (1/c)
17,91	28,01	0,563848	0,10000	10,00000	5,63847
	27,11	0,513928	0,09286	10,76890	5,53444
	26,26	0,466291	0,08667	11,53802	5,38007
	25,48	0,423067	0,08125	12,30769	5,20698
	24,60	0,37390	0,07545	13,25381	4,95556
	23,96	0,33795	0,07042	14,20051	4,79906



## Anexo D – Espetroscopia por NanoDrop e determinação da biomassa

### Espetroscopia por NanoDrop ND-1000

#### Materiais e Métodos

Para aferir a validade do NanoDrop para quantificação do crescimento fúngico sobre as amostras, inicialmente foi testado uma solução “mãe” de ADN numa concentração desconhecida e quatro diluições da mesma (1:1; 1:2; 1:5 e 1:10). Após a confirmação que este método tinha a capacidade de detetar proporcionalmente as variações de ADN, prosseguiu-se para a extração de ADN de amostras reais.

#### Extração

Foram preparadas 5 amostras para extração de ADN: 1 amostra líquida removida de esporos diretamente de uma colónia de *A. niger* num meio de *Potato Dextrose Agar* (PDA) e diluída em 0,05% Tween 80 (Panreac) esterilizado, permitindo verificar se o método de extração era viável; 4 amostras sólidas em que dois adesivos (pasta de Amido de trigo (Sigma-Aldrich) e Tylose MH300® (Arte&Memória) foram aplicados sobre papel Whatman® 1# e inoculados com 2 concentrações de *A. niger* ( $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^6$  esporos/ml). A extração de ADN foi realizada com o DNA Mini Kit (ZymoBIOMICS®) e foi seguido o protocolo do fabricante.

#### Análise no NanoDrop ND-1000

Foi selecionado a opção de *Nucleic acid* e *DNA 50 (dsDNA)* no software fornecido pelo NanoDrop. Entre cada medição o aparelho é limpo com papel embebido em etanol 70%. Antes da análise das amostras foi realizado um ‘branco’ com o solvente usado para diluir as amostras durante a extração (água millipore®) e as amostras são levadas ao vortex (VWR VV3) para homogeneizar. Foram pipetados 3µl de cada amostra sobre a célula do aparelho e analisadas 3 vezes.

#### Resultados

Na fig. D.1 é possível observar o crescimento dos fungos sobre o filtro que foram usados para a extração de ADN.



**Figura D.1** – Amostras usadas na extração de ADN a) colónia de *A. niger* b) Amido inoculado com  $1 \times 10^6$  esporos/ml c) Amido inoculado com  $1 \times 10^4$  esporos/ml d) Tylose inoculada com  $1 \times 10^6$  esporos/ml e) Tylose inoculada com  $1 \times 10^4$  esporos/ml.

**Tabela D.1** - Concentração obtida de ADN por Nanodrop.

	ng/ $\mu$ l
<i>Colónia</i>	6,93 $\pm$ 0,35
<i>Amido 1x10<sup>6</sup></i>	3,77 $\pm$ 0,67
<i>Amido 1x10<sup>4</sup></i>	2,83 $\pm$ 0,15
<i>Tylose 1x10<sup>6</sup></i>	8,40 $\pm$ 1,93
<i>Tylose 1x10<sup>4</sup></i>	5,43 $\pm$ 0,35

Pela tabela D.1, as amostras de Amido e Tylose inoculadas com  $1 \times 10^6$  esporos/ml, têm sempre uma concentração superior às amostras inoculadas com  $1 \times 10^4$  esporos/ml. Isto vai de acordo com o que é observado nos filtros com o fungo antes da extração (fig, D.1). No entanto, antes do processo de extração é possível observar pela fig. D.1 que ambos os filtros com Amido aparentam ter uma maior concentração de fungo do que os de Tylose. Os dados obtidos pelo Nanodrop não refletem esta observação, sendo que a concentração da Tylose apresentada na tabela D.1 é sempre superior à amostra de Amido correspondente.

Assim sendo, este método embora permitisse distinguir quantidades de fungo diferentes em amostras semelhantes (com o mesmo adesivo) não permitiu comparar amostras com diferentes adesivos. Esta diferença de resultados deve-se muito provavelmente ao método de extração pois tendo os dois adesivos características químicas e físicas diferentes, a ligação ao fungo será diferente e consequentemente, a capacidade de extrair o ADN do fungo também. Embora o Nanodrop permita quantificar ADN simples e rapidamente, o resultado estará sempre dependente da extração de ADN efetuada.

### **Medição da biomassa seca**

Após a preparação dos adesivos sobre um papel de filtro de microfibra de vidro (Whatman® 934-AH), cada amostra é colocada com uma pinça esterilizada dentro de uma caixa Petri previamente tarada na balança (Sartorius LE623S). Todas as amostras são pesadas 3 vezes e a média dos resultados é considerado como o peso inicial. Depois das pesagens as amostras são colocadas sobre um meio de *Mineral Salts Agar* (MSA), um meio indicado no ASTM D 4300 -01 que avalia a capacidade de um adesivo em filme suportar ou resistir ao crescimento de fungos [71].

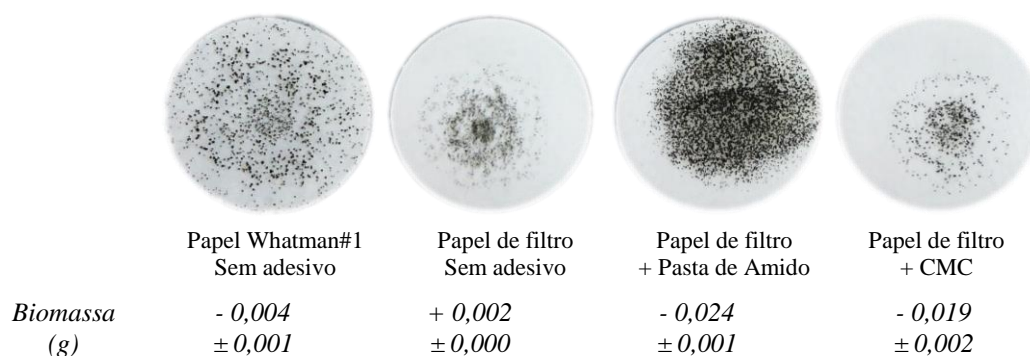
Após a colocação das amostras sobre o meio estas são inoculadas como descrito no capítulo 2.6 e deixadas na estufa entre 25-30°C durante 7 dias. As amostras de controlo não são inoculadas. Ao fim dos 7 dias os filtros são separados do meio e colocados sobre placas Petri. A secagem das amostras é realizada novamente em vácuo ( $15 \pm 5$  mBar) durante 20 horas. De seguida, a estabilização do peso das amostras é feita dentro de uma câmara de fluxo laminar durante uma hora, com a tampa da placa Petri aberta e à temperatura e HR ambiente.

Cada amostra é então colocada numa placa Petri previamente tarada e pesada três vezes (a média obtida será considerada como peso final). A biomassa é calculada pela subtração do peso final da amostra após a incubação pelo seu peso inicial. Dado que o papel/filtro é um material higroscópico e o seu peso pode variar com a humidade relativa (HR), esta e a temperatura (T°) dentro da câmara de fluxo laminar foram registadas durante as pesagens. Usando os controlos não inoculados como

referência, as variações de peso dependentes da HR foram compensadas nas restantes pesagens. Ou seja, a média do peso ganho ou perdido devido à HR dos controlos não inoculados foi subtraído ou adicionado, respetivamente, às amostras inoculadas [16].

Para testar a viabilidade deste método foi inicialmente usado apenas um papel de filtro sem adesivo (controlo), papel Whatman® #1 sem adesivo, pasta de Amido sobre filtro e CMC sobre filtro, inoculados com *A. niger*.

### Resultados



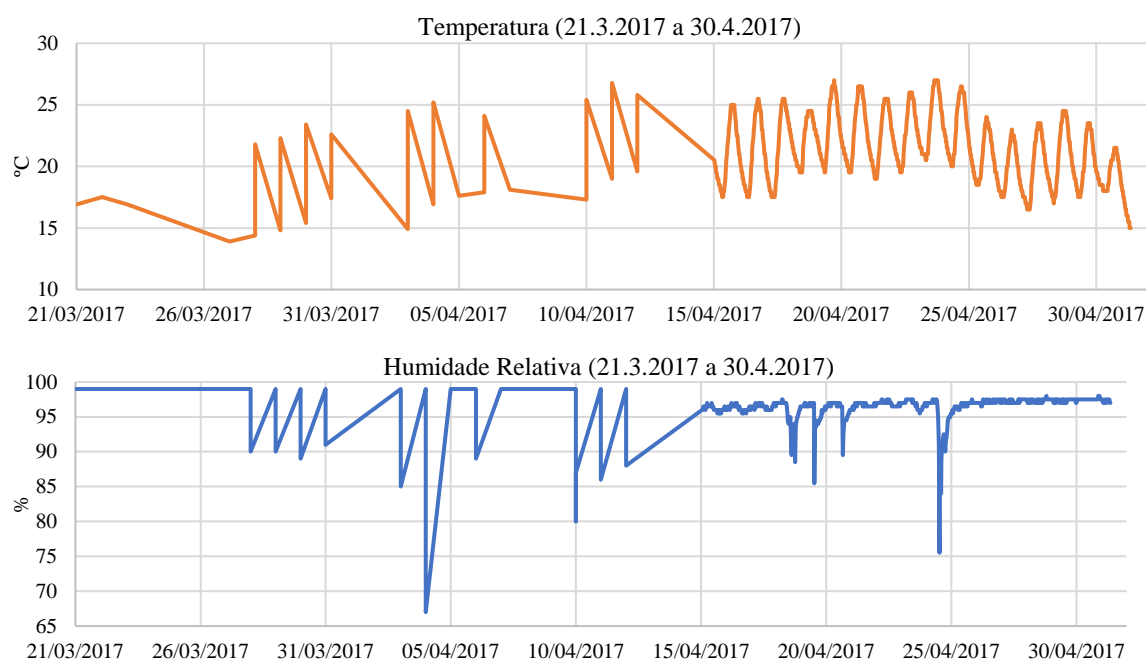
**Figura D.2** - Crescimento de *A. niger* ao fim de 7 dias sobre nas amostras e respetiva biomassa.

Pela fig. D.2 é possível observar que o *A. niger* cresceu em 100% do papel Whatman® #1 embora com uma menor área de esporulação do que o papel filtro com pasta de Amido. O papel de filtro sem adesivo e o papel de filtro com CMC tiveram um crescimento muito semelhante. Este resultado não permite esclarecer se o crescimento que ocorreu nas amostras de papel de filtro + CMC se deve ao adesivo ou ao filtro.

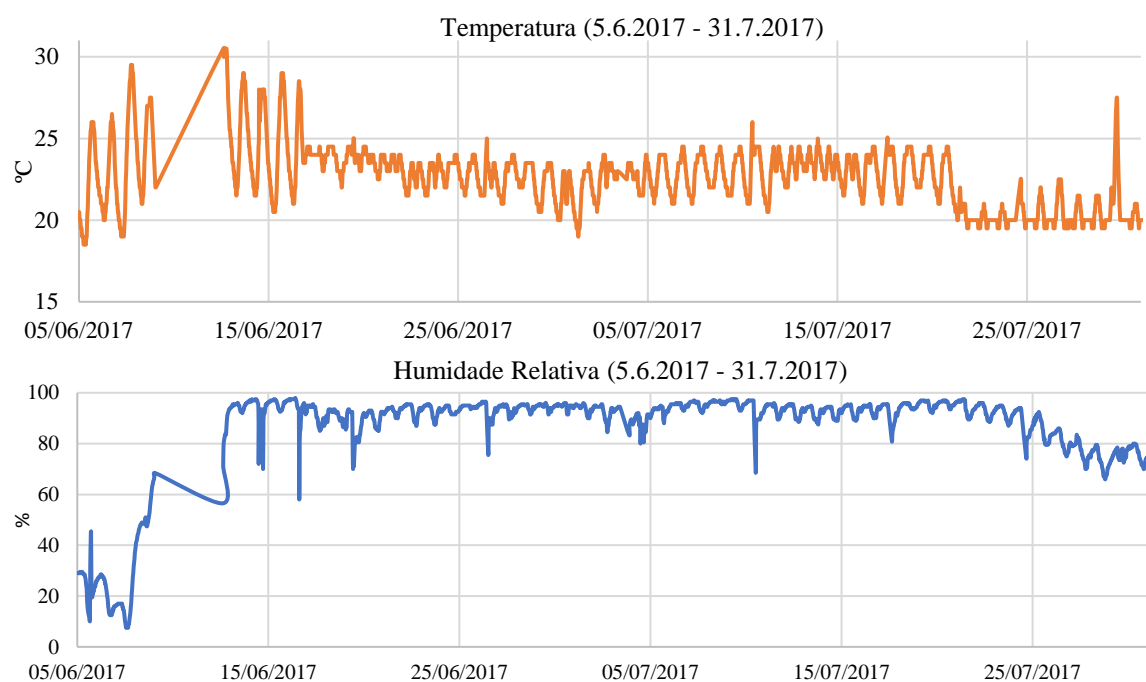
Os resultados obtidos por biomassa são maioritariamente negativos e não correspondem ao que é observado na fig. D.2. Em teoria, se ocorreu um maior crescimento, a biomassa seria positiva. Se o fungo se alimentou do adesivo, então o peso final seria semelhante ao peso inicial. É possível que o fungo se esteja a alimentar do adesivo e que o resultado seja um produto mais leve, ocorrendo uma perda de massa devido ao metabolismo do fungo. No entanto o papel de filtro teve uma biomassa positiva enquanto que o papel de filtro + CMC, com um resultado visual muito semelhante, apresentou uma biomassa negativa. Para a realização deste estudo, a medição de biomassa seca não aparenta ter sensibilidade suficiente.

Deste modo, optou-se por não se realizar a medição de biomassa para as restantes amostras. Embora a perda de peso possa ser uma boa indicação de colonização, a diferença de peso entre adesivos é pequena, podendo dificultar o uso desta técnica.

## Anexo E – Condições de HR e T dentro da caixa de incubação



**Figura E.1** – Temperatura e Humidade Relativa obtidos entre 21 de Abril e 30 de Maio. Antes de 15 de Abril os valores foram obtidos de 12 em 12 horas. Depois de 15 de Abril foram obtidos de 30 em 30 min.



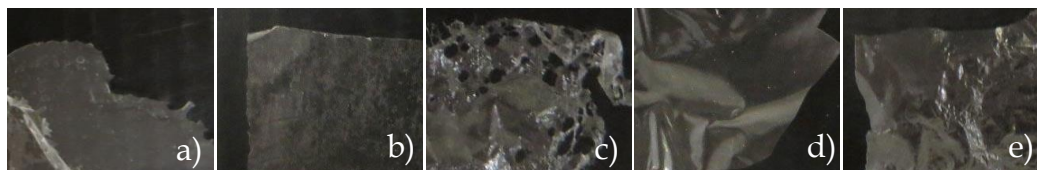
**Figura E.2** – Temperatura e humidade relativa medidos entre 5 de Junho e 31 de Julho. Valores obtidos de 30 em 30 min.

As amostras Não Envelhecidas estiveram durante 56 dias numa sala com ar condicionado programado para 25°C (fig. E.1). Na primeira semana da experiência relativa às amostras Envelhecidas, optou-se por mudar as amostras para uma nova sala (inicialmente programada para 25°C) devido às grandes variações de temperatura (T) e humidade relativa (HR) que estavam a ocorrer na sala inicial (fig. E.2). Nos gráficos de HR, os picos com rápidas diminuições de HR correspondem aos dias em que a caixa de incubação era aberta para fotografar as amostras.

## Anexo F - Observação macroscópica dos adesivos em filme

### Não Envelhecidos

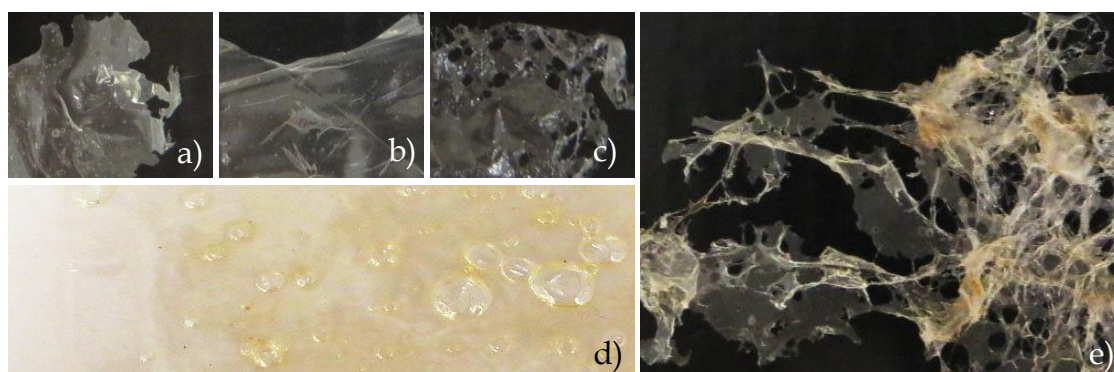
Todos os adesivos preparados em filme são transparentes e incolores após secagem (fig. F.1).



**Figura F.1** - Filmes dos adesivos Não Envelhecidos sobre um fundo preto de a) pasta de Amido, b) *Archibond*®, c) CMC, d) HPC e e) MC. Todas as imagens têm 22mm de comprimento.

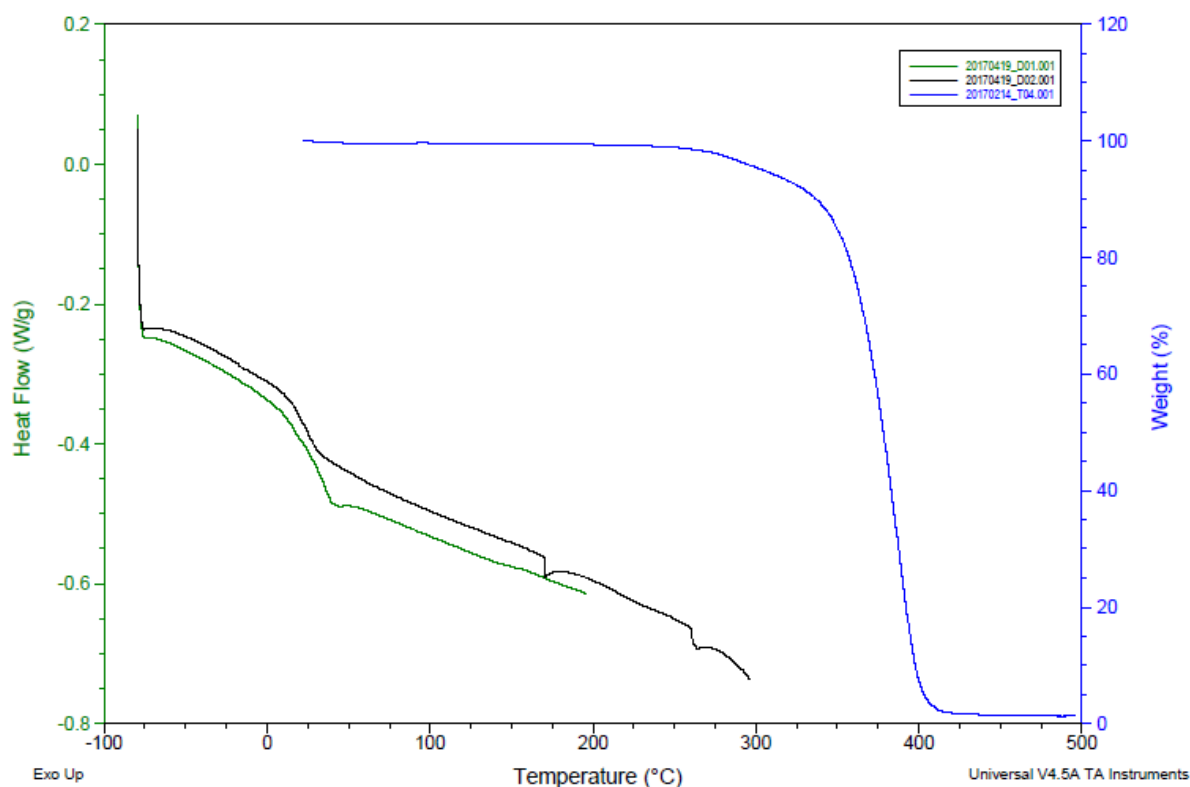
### Envelhecidos

Os filmes de Amido, HPC e MC, depois do envelhecimento artificial são transparentes e incolores (fig. F.2, a), b) e c)). O filme de *Archibond*® apresenta bolhas de ar e um ligeiro tom amarelado (mais pronunciado no meio do filme) visível sobre um fundo branco (fig. F.2, d)). O CMC quando forma um filme tem espessuras diferentes, sendo que as zonas mais espessas apresentam um tom amarelo (fig. F.2, e)).



**Figura F.2** - Filmes dos adesivos Envelhecidos sobre fundo preto de a) pasta de Amido, b) HPC e c) MC (escala = 22 mm de comprimento); sobre fundo branco d) *Archibond*® (escala = 66mm de comprimento); sobre fundo preto e) CMC (escala = 44mm de comprimento).

## Anexo G – Análise de calorimetria diferencial de varrimento (DSC)



**Figura G.1** – Termogramas de DSC (linha verde – 1ª análise; linha preta – 2ª ensaio análise) e de TGA (linha azul) do Archibond®.

A amostra foi sujeita a dois ensaios consecutivos de DSC, sempre com um regime de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em atmosfera de nitrogénio. Na fig. G.1 é possível observar que em ambos os ensaios ocorreu uma mudança na linha de base próxima dos  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , que corresponde à temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) isto é, temperatura abaixo da qual o polímero apresenta uma estrutura sólida desordenada (estado vítreo). É ainda visível no termograma de TGA que a decomposição do adesivo tem início a cerca de  $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O facto de ocorrer apenas uma  $T_g$  em vez de duas, a um valor compreendido entre as temperaturas de transição vítrea do PMA e do PEMA ( $9,85\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $64,85\text{ }^{\circ}\text{C}$  respetivamente [72,73]) sugere que se está na presença de um copolímero e não de uma mistura de polímeros.



## Anexo H – Higroscopia

**Tabela H.1** – Valores obtidos dos adesivos após atmosfera de vácuo (t=0); e atmosferas com Humidade Relativa 50% e 90%.

		Não envelhecido			Envelhecido			
Amido	Massa (g)	t=0	Amostra contaminada	0,091	0,092	0,094	0,093	0,092
		50%		0,100	0,101	0,104	0,101	0,101
				0,100	0,101	0,103	0,102	0,102
				0,137	0,137	0,142	0,143	0,137
		90%		0,136	0,134	0,140	0,140	0,139
				0,135	0,133	0,141	0,138	0,139
				0,130	0,128	0,135	0,131	0,136
		Média e desvio padrão			Média e desvio padrão			
(massa final - massa inicial) / massa final x 100 (%)	50%	10 ± 0,3			10 ± 0,4			
	90%	46 ± 1,6			49 ± 0,6			
		Não envelhecido			Envelhecido			
Archibond® Sem suporte	Massa (g)	t=0	0,104	0,105	0,103	0,101	0,101	0,098
		50%	0,104	0,106	0,103	0,102	0,101	0,100
			0,106	0,106	0,104	0,102	0,102	0,100
		90%	0,118	0,115	0,113	0,115	0,111	0,113
			0,114	0,114	0,112	0,112	0,110	0,112
			0,115	0,114	0,113	0,113	0,113	0,115
		Média e desvio padrão			Média e desvio padrão			
		(massa final - massa inicial) / massa final x 100 (%)	50%	1 ± 0,2			1 ± 0,5	
90%	10 ± 1,1			12 ± 2,4				
		Não Envelhecido			Envelhecido			
CMC	Massa (g)	t=0	0,095	0,093	0,096	0,087	0,088	0,085
		50%	0,098	0,096	0,099	0,098	0,099	0,096
			0,098	0,096	0,099	0,098	0,100	0,097
		90%	0,213	0,208	0,213	0,221	0,238	0,232
			0,219	0,215	0,217	0,223	0,241	0,231
			0,213	0,208	0,213	0,304	0,326	0,312
		Média e desvio padrão			Média e desvio padrão			
		(massa final - massa inicial) / massa final x 100 (%)	50%	3 ± 0,2			13 ± 0,3	
90%	125 ± 1,5			198 ± 10,1				
		Não Envelhecido			Envelhecido			
HPC	Massa (g)	t=0	0,097	0,096	0,101	0,097	0,097	0,095
		50%	0,098	0,098	0,102	0,100	0,100	0,097
			0,098	0,098	0,102	0,100	0,100	0,098
		90%	0,139	0,132	0,140	0,154	0,151	0,149
			0,147	0,139	0,146	0,151	0,147	0,147
			0,139	0,132	0,140	0,157	0,157	0,156
		Média e desvio padrão			Média e desvio padrão			
		(massa final - massa inicial) / massa final x 100 (%)	50%	2 ± 0,2			3 ± 0,2	
90%	42 ± 3,8			58 ± 1,2				
		Não Envelhecido			Envelhecido			
MC	Massa (g)	t=0	0,098	0,096	0,096	0,098	0,098	0,097
		50%	0,102	0,098	0,098	0,101	0,100	0,100
			0,102	0,099	0,098	0,100	0,100	0,099
		90%	0,174	0,168	0,169	0,175	0,179	0,180
			0,167	0,160	0,164	0,169	0,173	0,176
			0,192	0,191	0,191	0,198	0,206	0,219
		Média e desvio padrão			Média e desvio padrão			
		(massa final - massa inicial) / massa final x 100 (%)	50%	3 ± 1,2			3 ± 0,6	
90%	81 ± 1,7			91 ± 6,9				

## Anexo I – Medições de pH

**Tabela I.1** – Valores obtidos na medição de pH (média  $\pm$  desvio padrão).

	<i>Não Envelhecido</i>		<i>Envelhecido</i>	
	Média e Desvio Padrão	Média e Desvio Padrão finais	Média e Desvio Padrão	Média e Desvio Padrão finais
<i>Água Millipore®</i>	6,43 $\pm$ 0,09	6,43 $\pm$ 0,09	6,00 $\pm$ 0,14	6,00 $\pm$ 0,14
<i>Papel</i>	6,27 $\pm$ 0,07		5,79 $\pm$ 0,03	
	6,26 $\pm$ 0,06	6,29 $\pm$ 0,02	5,88 $\pm$ 0,09	5,87 $\pm$ 0,03
	6,35 $\pm$ 0,03		5,95 $\pm$ 0,05	
	6,25 $\pm$ 0,03		5,99 $\pm$ 0,04	
<i>Amido</i>	6,23 $\pm$ 0,02	6,24 $\pm$ 0,01	6,03 $\pm$ 0,06	6,01 $\pm$ 0,02
	6,23 $\pm$ 0,02		6,00 $\pm$ 0,06	
	6,12 $\pm$ 0,07		5,47 $\pm$ 0,05	
	6,13 $\pm$ 0,08	6,13 $\pm$ 0,02	5,42 $\pm$ 0,05	5,46 $\pm$ 0,04
<i>Archibond</i>	6,15 $\pm$ 0,08		5,49 $\pm$ 0,05	
	6,90 $\pm$ 0,04		6,73 $\pm$ 0,07	
	7,02 $\pm$ 0,03	6,99 $\pm$ 0,08	6,87 $\pm$ 0,04	6,82 $\pm$ 0,07
	7,04 $\pm$ 0,04		6,84 $\pm$ 0,04	
<i>CMC</i>	6,24 $\pm$ 0,07		5,53 $\pm$ 0,02	
	6,23 $\pm$ 0,09	6,24 $\pm$ 0,01	5,44 $\pm$ 0,04	5,51 $\pm$ 0,07
	6,26 $\pm$ 0,04		5,57 $\pm$ 0,05	
	6,37 $\pm$ 0,04		5,61 $\pm$ 0,05	
<i>HPC</i>	6,42 $\pm$ 0,02	6,38 $\pm$ 0,04	5,67 $\pm$ 0,09	5,64 $\pm$ 0,03
	6,35 $\pm$ 0,03		5,64 $\pm$ 0,08	

**Tabela I.2** – Valores de P obtidos após a análise estatística ANOVA (factor único) entre papel sem adesivo (controlo) e papel com adesivo

<i>Adesivo</i>		<i>Valor P</i>	Realizou-se uma análise ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) para analisar diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de controlo e as amostras com adesivo. Encontram-se salientadas a vermelho as amostras cujo pH não é significativamente diferente das amostras de controlo.
<i>Amido</i>	Não Envelhecido	0,132919	
	Envelhecido	0,053486	
<i>Archibond® sem suporte</i>	Não Envelhecido	0,005725	
	Envelhecido	0,001461	
<i>CMC</i>	Não Envelhecido	0,000175	
	Envelhecido	0,000130	
<i>HPC</i>	Não Envelhecido	0,175087	
	Envelhecido	0,004243	
<i>MC</i>	Não Envelhecido	0,000175	
	Envelhecido	0,010649	

## Anexo J – Colorimetria

**Tabela J.1** – Valores de L\*, a\* e b\* obtidos dos adesivos aplicados em papel. Papel sem adesivo é considerado como controlo.

	<i>Não envelhecido</i>			<i>Envelhecido</i>		
	Média e desvio padrão			Média e desvio padrão		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
<i>Controlo</i>	94,17 $\pm$ 0,02	-0,45 $\pm$ 0,03	1,32 $\pm$ 0,07	94,23 $\pm$ 0,04	-0,43 $\pm$ 0,02	1,31 $\pm$ 0,06
<i>Amido</i>	94,05 $\pm$ 0,11	-0,54 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,04	93,22 $\pm$ 0,04	-0,43 $\pm$ 0,03	1,35 $\pm$ 0,05
<i>Archibond®</i>	94,72 $\pm$ 0,12	-0,62 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,06	93,17 $\pm$ 0,09	-0,36 $\pm$ 0,07	3,08 $\pm$ 0,07
<i>CMC</i>	93,38 $\pm$ 0,11	-0,69 $\pm$ 0,01	1,47 $\pm$ 0,28	87,46 $\pm$ 0,89	1,01 $\pm$ 0,24	10,49 $\pm$ 0,94
<i>HPC</i>	94,22 $\pm$ 0,01	-0,72 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,04	93,06 $\pm$ 0,05	-0,56 $\pm$ 0,02	2,23 $\pm$ 0,01
<i>MC</i>	93,86 $\pm$ 0,41	-0,65 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,04	92,80 $\pm$ 0,09	-0,60 $\pm$ 0,05	1,90 $\pm$ 0,11

## Anexo K – Área colonizada por fungos em %

**Tabela K.1** – Valores médios obtidos após a medição da área de colonização por ImageJ (%) em substrato de papel.

### Substrato de papel

		Não Envelhecido						Envelhecido					
	dias	s/ adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>A. niger</i>	0	0	0	0*	0	0*	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	≤1	0	0	0	≤1	0	2	0	0*	0*	0*
	14	0	≤1	0	0	0	≤1	≤2	6	0	0	0	0
	21	≤1	1	0	0	0	1	≤2	7	0	0	0	0
	28	4	10	0	0	≤1	8	≤2	12	0	0	≤1	0
	35	5	23	0	0	≤1	8	2	13	0	0	≤1	0
	42	5	45	0	0	≤1	10	33	14	0	0	4	0
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	34	29	0	0	6	0
	56	10	78	0	≤1	3	19	37	32	0	0	6	0
	dias	s/ adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>A. pullulans</i>	0	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0*	0*	0*
	14	0	0	0	0	0	≤1	0	0	0	0	0	0
	21	0	0	0	0	≤2	≤1	0	0	0	0	0	0
	28	0	0	0	0	≤2	≤1	0	0	0	0	0	0
	35	0	0	0	0	≤2	≤1	0	0	0	0	0	0
	42	0	≤1	≤1	≤1	3	≤1	0	0	0	0	0	0
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0	0	0	0	0
	56	≤1	17	≤1	1	3	≤1	0	0	0	0	0	0
	dias	s/ adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>P. pinophilum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0*	0*	0	≤1	0	0*	0*	0*
	14	0	≤1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	21	0	≤1	0	0*	0	0	0	3	0	0	0	0
	28	0	≤2	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
	35	0	2	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	42	0	5	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	18	0	0	0	0
	56	0	7	0	≤1	0	0	0	21	0	0	0	0

Nd – não definido

**Tabela K.2** - Valores médios obtidos após a medição da área de colonização por ImageJ (%) em substrato de vidro.

**Substrato de vidro**

		Não Envelhecido						Envelhecido					
	dias	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>A. niger</i>	0	0*	0	0*	0	0	0*	0	0	0	0	0	0
	7	0	≤1	0	0	0	0	0*	0*	0*	0*	0*	1,3
	14	0	≤1	0	0*	0*	0	0	≤1	0	0	0	1,3
	21	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1,3
	28	0	15	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1,3
	35	0	16	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3,2
	42	0	39	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3,2
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	1,5	0	0	0	3,2
	56	0	62	0	0	0	0	0	1,5	0	0	≤1	3,4
	dias	s/ adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>A. pullulans</i>	0	0*	0	0*	0	0*	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	≤2	0	0	0	0	0	0	0*	0*	0	0*
	14	0	≤2	0	0*	0	0*	0	≤2	0	0	0	0
	21	0	>2	0	0	0	0	0	≤2	0	0	0	0
	29	0	>2	0	0	0	0	0	≤2	0	0	0	0
	35	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
	42	0	8	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	84	0	0	0	0
	56	0	41	0	0	0	0	0	85	0	0	0	0
	dias	s/ adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC	s/adesivo	Amido	A.S.	CMC	HPC	MC
<i>P. pinophilum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0*	2	0*	0*	0*	0*	0	0	0*	0	0	0*
	14	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	0	6	0	0	0	0	0	≤1	0	0	0	0
	29	0	7	0	0	0	0	0	≤1	0	0	0	0
	35	0	9	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
	42	0	14	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0
	49	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	45	0	0	0	0
	56	0	55	0	0	0	0	0	47	0	0	0	0

Nd – não definido